

UNIVERSITÉ DE LYON
FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

ANNÉE 1967 - N° 537

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES EFFETS
D'UNE IRRADIATION GAMMA CORPORELLE TOTALE
AU NIVEAU DU PARENCHYME HÉPATIQUE

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

Section de PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement
devant la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Lyon
le 29 JUIN 1967

par

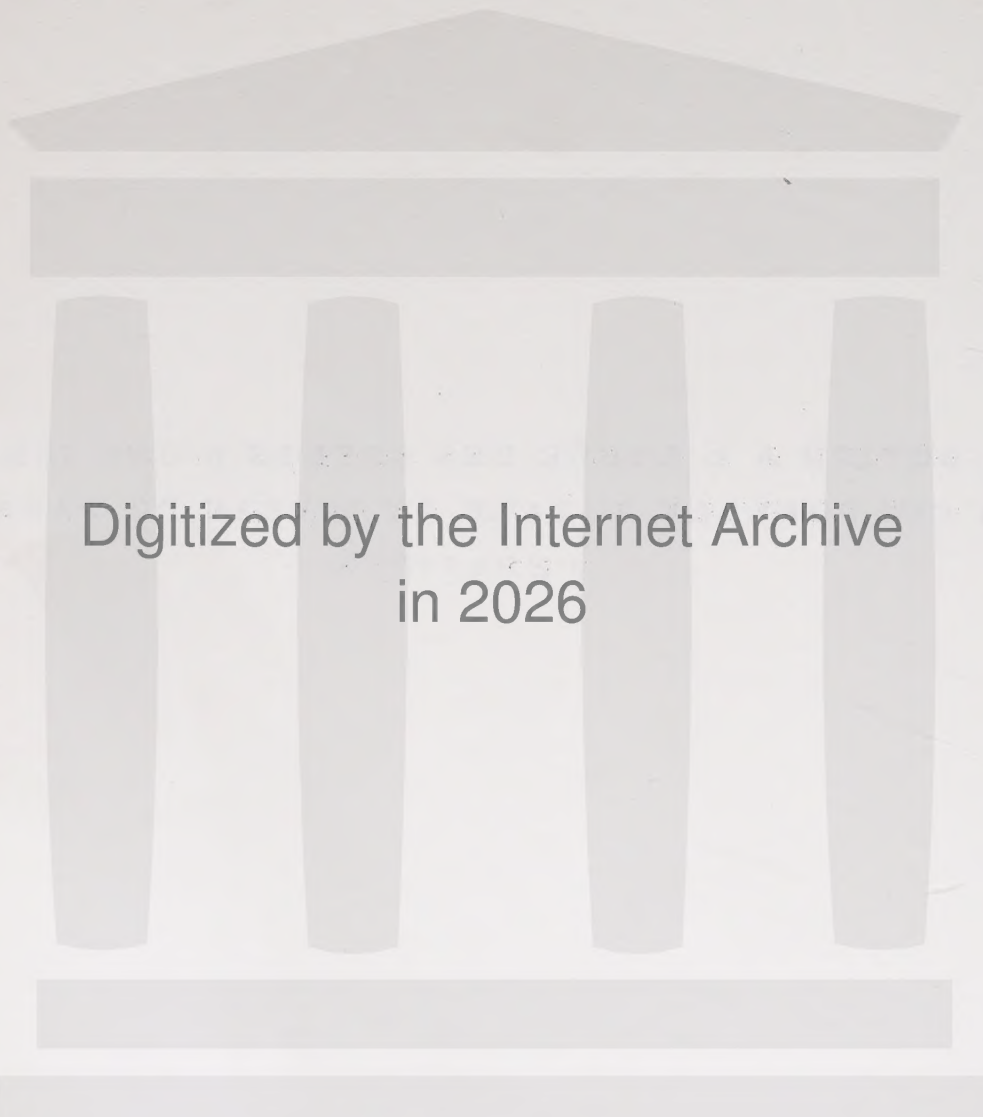
Monsieur LEFAURE Jacques, André

Pharmacien - Ancien Interne des Hôpitaux de Lyon

Diplômé de Sérologie, d'Hématologie et de Parasitologie Pharmaceutique et Technique
né le 31 Janvier 1940 à Lyon

Travail des Laboratoires de Physiologie A et de Pharmacodynamie de la Faculté
et de la Division de Chimie du Centre de Recherches du Service de Santé des Armées
Ces recherches ont été Subventionnées par la Direction des Recherches et Moyens d'Essais,

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES EFFETS D'UNE IRRADIATION
GAMMA CORPORELLE TOTALE AU NIVEAU DU PARENCHYME
HEPATIQUE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552601_0008

FACULTE MIXTE DE MEDECINE et DE PHARMACIE DE LYON.

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyens Honoraires :

M. J. LEPINE - Membre de l'Institut.

M. H. HERMANN - Correspondant de l'Institut.

Doyen :

M. J. F. CIER

Assesseurs :

M. M. LEVRAT

M. J. DORCHE.

Conseiller Administratif

M. H. PRUVOST.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. PATEL - LEPINE - TRILLAT - GARIN - GATE -
MARTIN - GABRIELLE - SANTY - DUCLOS - SANTY -
GABRIELLE - DUCLOS - GUILLEMINET - HERMANN -
ROCHET - POLLOSSON - ENSELME - WERTHEIMER -
SARROUY - BANSSILLON - DECHAUME - LACROIX -

PROFESSEURS

M. J. CIBERT	Clinique urologique.
P. PONTIUS	Physique biologique (détaché à Beyrouth).
M. CHAMBON	Chimie organique et toxicologie.
F. PAUPERT- RAVAULT	Clinique médicale B.
R. FROMENT	Clinique et prophylaxie cardio-vasculaires.
P. CROIZAT	Clinique médicale C.
P. MALLET-GUY	Clinique chirurgicale A.
L. REVOL	Pharmacie galénique.
H. PIGEAUD	Clinique obstétricale.
J. BOURRET	Médecine du travail.
M. LEVRAT	Clinique médicale A.
R. SCHIER	Bactériologie - Virologie - Immunologie.
G. NETIEN	Botanique et Cryptogamie.
P. BERTRAND	Clinique chirurgicale C.
A. BADINAND	Chimie analytique pharmaceutique.
B. DREVON	Pharmacie chimique et Pharmacologie.
L. ROCHE	Médecine légale et Déontologie.
J. COUDERT	Parasitologie et Pathologie exotique.
P. MOUNIER-KUHN	Clinique d'Oto-Rhino-Laryngologie et d'Audiophonologie
L. PAUFIQUE	Clinique Ophtalmologique.
H. THIERS	Clinique de Dermatologie, Syphiligraphie et Allergologie
J. BRUN	Clinique de Pneumophtisiologie.
J. CREYSSEL	Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique.
M. DARGENT	Clinique carcinologique.
M. BERGER (1)	Physique nucléaire appliquée à la Médecine.
A. GUICHARD	Anatomie pathologique.
P. GIRARD	Pathologie générale et expérimentale.
M. GIRARD	Clinique médicale D.
M. LATARJET	Anatomie.
R. PEUCELON	Clinique chirurgicale B.
A. VACHON	Pathologie médicale.
P. GALY	Physio-pathologie des voies respiratoires.
J. PAPILLON	Radiologie.
M. JEUNE	Clinique médicale infantile et Hygiène du 1 ^{er} âge.
A. GONIN	Thérapeutique.
P. MONNET	Clinique médicale infantile B.
J. CHATONNET	Physiologie B.
P. GUINET	Clinique endocrinologique.
H. COLLET (1)	Chimie générale et pharmaceutique.
A. TRILLAT.	Clinique de Chirurgie orthopédique.
Ch. FREIDEL	Clinique stomatologique.
J. MARION	Clinique de Chirurgie et d'Orthopédie infantiles.

(1) Professeurs à titre personnel.

MM.	J. DORCHE	Matière médicale et Législation pharmaceutique.
	L. MANSUY (1)	Neurochirurgie.
	L. REVOL (1)	Hématologie.
	J. LECUIRE (1)	Neurochirurgie.
	H. LIARAS (1)	Clinique chirurgicale propédeutique.
	L. PERROT	Chimie.
	J. F. CIER	Physiologie A.
	J. PERRIN	Thérapeutique chirurgicale et Chirurgie opératoire.
	P. GOINARD (1)	Clinique thérapeutique chirurgicale et chirurgie expérimentale.
	P. MICHAUD	Clinique de Chirurgie cardiaque.
	M. PONT (1)	Médecine générale.
	J. TRAEGER (1)	Pathologie métabolique et rénale.
	J. MATHIEU	Clinique gynécologique.
	G. FAUCON	Biologie médicale et Pharmacodynamie.
	A. BERTOYE	Clinique des Maladies infectieuses.
	G. VIGNON	Hydrologie thérapeutique, Climatologie et Ecologie sociale.
	D. VINCENT	Biochimie appliquée.
	A. CIER	Pharmacodynamie.
	L. COLOBERT	Chimie biologique et médicale.
	X.....	Pathologie chirurgicale.
	X.....	Clinique neuro-psychiatrique et d'Hygiène mentale.
	X.....	Physiologie et Pathologie obstétricales.
	X.....	Hygiène et Action sanitaire et sociale.
	X.....	Histologie et Embryologie.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM.	ROMAN	Parasitologie.
	FEROLDI	Anatomie pathologique.
	MORET	Physique biologique.
	ODDOUX	Botanique et Cryptogamie.
	de SOLLIERS	Chimie analytique
	DESPIERRES	Médecine générale.
	GARIN	Parasitologie.
	TOLOT	Médecine du Travail
	THIVOLET	Hygiène
	MALLEIN	Chimie analytique
	PINET	Electro-Radiologie
	COLOMB	Dermatologie.

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES TITULAIRES

MM.	CREYSSEL R.	Chimie biologique.
	GUYOTAT	Neuro-psychiatrie.
	DESCOTES	Chirurgie générale
	JOUVET	Pathologie expérimentale.
	PEYRIN	Physique biologique.
	TOMMASI	Anatomie pathologique.
	BUFFARD	Electro-radiologie.
	LEJEUNE	Médecine générale et thérapeutique.
	de MOURGUES Fr.	Stomatologie.
	NAUSSAC	Maladies infectieuses.
	REBOUILLAT	Chirurgie générale.
	ROMAGNY	Pédiatrie.
	DELAHAYE	Médecine générale.
	DELEUZE	Anesthésiologie.
	GIRAUD	Electro-radiologie diagnostic et thérapeutique.
	MICHEL	Anesthésiologie.
	FRANCOIS	Pédiatrie et Puériculture.
	MICHOULIER	Chirurgie générale.
	LAMBERT	Médecine générale.
	FRIES	Médecine générale.
	GILLY	Pédiatrie.
	ROBERT	Médecine générale.
	BOUCHET	Anatomie.
	BETHENOD	Pédiatrie.
	GERMAIN	Immunologie, sérologie, hématologie.

MM.	KALB	Pneumo-phtisiologie.
	LARBRE	Pédiatrie.
	SOUSTELLE	Chirurgie générale.
	VIALA	Médecine générale.
	VINCENT	Bactériologie, parasitologie, virologie.
	GIROD	Histologie et Embryologie.
	GRAS	Chimie biologique.
	COLIN	Médecine légale.
	BERTRAND	Chimie biologique.
	MARET	Chirurgie générale.
	VIALLIER-RAYNARD	Bactériologie.
	CHOLLAT	Electro-radiologie.
	FLEURETTE	Bactériologie.
	FLANDROIS	Physiologie.
	MOREL	Hématologie.
	TERMET	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire.
	FREDERICH	Pharmacologie.
	DAUDET	Chirurgie infantile.
	BRUNE	Médecine générale et Thérapeutique.
	LOMBARD-PLATET	Chirurgie générale.
	BOUVIER	Rhumatologie.
	FREYCON	Pédiatrie.
	LAPRAS	Neuro-chirurgie.
	PELLET	Physiologie.
	DUQUESNEL	Electroradiologie.
	DEJOUR	Orthopédie et Traumatologie.
	MCULIN	Dermato-Vénérologie.
	PERRIN-FAYOLLE	Pneumo-phtisiologie.
	PALIARD	Médecine générale et Thérapeutique.
	MERGON	C. R. L.
M.	PAUPERT-RAVAULT	Ophthalmologie.
	MOTIN	Anesthésiologie.
	PASQUIER	Médecine générale et Thérapeutique.
	VAUZELLE	Anatomie pathologique.
	CZYBA	Histologie et Embryologie.
	CABANAC	Physiologie.
	TOURAINÉ	Pneumo-phtisiologie.
	BEL	Médecine générale et Thérapeutique.
	CHARVET	Gynécologie obstétrique.
	BRAILLON	Anatomie et Chirurgie générale.
	VILLIERS	Chirurgie générale.
	LOUISOT	Chimie biologique et Chimie des Explorations fonctionnelles.
	COURJON	Neuro-Psychiatrie.
	MORNEZ	Médecine générale.

MAÎTRES DE CONFÉRENCES AGREGÉS STAGIAIRES

MM.	FAVRE-GILLY	Hématologie.
	RIFFAT	Hygiène
	ROLLET	Pharmacie galénique.
	BIZOLLON	Physique.

AGREGÉS EN EXERCICE

MM.	BONAMCUR	Ophthalmologie.
	FRANCILLON	Chirurgie générale.
	NOTTER	Gynécologie obstétricale.
	de MOURGUES G.	Chirurgie générale.
	DUMONT Martial	Obstétrique.
	SCHOTT	Neuro-psychiatrie.
	DEVIC	Médecine générale.
	SAUBIER	Chirurgie générale.
	DURAND	Urologie.
	HUCONNIER	Ophthalmologie.
	ALLEGRE	Neuro-chirurgie.
	GARDE	Médecine - générale.
	FAYSE	Orthopédie.
	GAILLARD	Oto-rhino-laryngologie.
	PERRIN A.	Médecine générale.
	NORMAND	Médecine générale.
	MCUNIER -KUHN A.	Chirurgie générale.
	CHASSARD	Electro-radiologie.
	GARMIER	Obstétrique.
	DUMAS	Stomatologie.
	SCHNEPP	Orthopédie.
	NCEL	Médecine générale.

Examineurs de la Thèse :

- Président : M. le Professeur J-F. CIER

- Assesseurs : MM. A. CIER,

B. DREVON,

R. MALLEIN.

- A MES GRANDS PARENTS.

- A MES PARENTS.

- A MA FEMME.

- A MON FILS Jean-Michel.

- A MES BEAUX PARENTS.

- A MON FRERE.

- A MES BELLES SOEURS.

- A TOUS LES MIENS.

- A TOUS MES AMIS.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE.

Monsieur le Professeur J. F. CIER.

Professeur de Physiologie.

Doyen de la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de LYON.

En mettant à notre disposition son service à la faculté, il a favorisé l'accomplissement de ce travail.

Nous sommes heureux de lui exprimer notre respectueuse gratitude et nous le remercions vivement du très grand honneur qu'il nous fait en acceptant la présidence de notre jury.

AUX MEMBRES DE NOTRE JURY.

Monsieur le Professeur A. CIER.

Professeur de Pharmacodynamie.

Qui nous a inspiré le sujet de cette thèse.

N'épargnant pas son temps, il nous a aimablement guidé dans l'élaboration de ce travail et fait profiter de sa grande expérience.

Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de notre gratitude et de notre reconnaissance.

Monsieur le Professeur R. MALLEIN.

Professeur de Chimie Analytique

Pharmacien des Hôpitaux.

Nous avons apprécié, aussi bien à la faculté que dans son service où il nous confia nos premières responsabilités hospitalières, l'intelligence de son enseignement et les précieux conseils qu'il nous a toujours protigués.

Nous le remercions vivement de l'honneur qu'il nous fait en acceptant de faire partie de notre jury.

Qu'il soit assuré de notre respectueux attachement.

Monsieur le Professeur B. DREVCN

Professeur de Pharmacie chimique et pharmacologie.

Nous le remercions d'avoir bien voulu juger ce travail.

Qu'il soit assuré de notre gratitude.

La recherche des agents permettant de protéger l'organisme contre les effets toxiques d'une irradiation totale pose un problème difficile ; le plus souvent, les essais sont limités à la mise en évidence d'une différence dans les pourcentages de mortalité observés entre les lots d'animaux témoins et traités.

Mais la létalité n'est que le résultat ultime, probablement grossier, de l'effet des radiations ionisantes sur l'organisme. Les recherches seraient certainement plus valables si l'on connaissait de manière plus précise les effets primaires et secondaires d'une irradiation corporelle totale sur les grandes fonctions vitales de l'organisme ainsi que leurs modalités d'action et leurs interrelations sur les différents métabolismes biochimiques.

C'est dans cette optique d'une analyse pharmacologique des effets d'une irradiation totale in vivo que nous avons orienté notre étude sur l'atteinte hépatique consécutive à une irradiation gamma.

Le but de notre travail a été d'étudier le catabolisme de la sérum albumine, protéine dont le métabolisme est presque exclusivement hépatique, chez les animaux soumis à une irradiation corporelle totale.

Nous nous sommes proposés notamment d'étudier le devenir d'une sérum albumine autologue chez le lapin soumis à une telle irradiation et de suivre parallèlement l'évolution d'enzymes sériques dont les variations sont classiquement rapportées à des atteintes hépatiques d'origines diverses.

Enfin, nous avons cru bon de comparer ces résultats avec ceux obtenus lors de l'administration d'un agent hépatotoxique spécifique comme le tétrachlorure de carbone.

Dans le cadre de cet exposé nous nous sommes limités à une étude sur le lapin, afin d'obtenir des quantités de sang veineux suffisantes aux évaluations qualitatives et quantitatives que nous avons pratiquées (transaminases sériques glutamique oxalacétique, et glutamique pyruvique, lacticodeshydrogénase, électrophorèse sur papier des protéines sériques, et étude de la demi-albumine), tests que nous

avons choisis pour leurs qualités de rapidité, de simplicité et de fidélité en tant que témoins d'une atteinte hépatique.

Ainsi, dans une première partie, nous avons été amenés à faire le point des connaissances actuelles sur le métabolisme des protéines et plus particulièrement de la sérum albumine, ainsi que sur les mécanismes biochimiques de l'action des radiations ionisantes.

Dans la seconde partie, consacrée à l'étude expérimentale, nous exposerons les protocoles choisis, et les raisons de ce choix, pour isoler l'albumine, marquer cette protéine à l'aide d'iode 131, étudier le catabolisme de la sérum albumine autologue chez le lapin, et pour évaluer l'atteinte hépatique, en comparaison avec une intoxication aigue au tétrachlorure de carbone.

Les résultats obtenus feront l'objet de la discussion, dernière partie de notre travail, dans laquelle nous envisagerons l'action de l'irradiation gamma sur le métabolisme de l'albumine dans l'optique d'une atteinte hépatique.

Le plan que nous avons adopté pour notre exposé est du reste mentionné ci-après.

PLAN

INTRODUCTION

A) GENERALITES

- 1) Synthèse hépatique des protéines et en particulier de la sérum albumine. Preuves bibliographiques.
Notion de turn-over.
Catabolisme de la sérum-albumine. Moyens d'étude.
- 2) Effets généraux des radiations ionisantes sur l'organisme et ses différents métabolismes, plus particulièrement le métabolisme protéique.

B) ETUDE EXPERIMENTALE

PREMIERE PARTIE : Les méthodes utilisées.Chapitre I

- I - 1 - Isolement de l'albumine.
- I - 2 - Marquage de l'albumine à l'iode 131.

Chapitre II : Protocoles opératoires.

- II - 1 - Irradiation.
- II - 2 - Injection de l'albumine- Etude de la demi-vie.
- II - 3 - Tests utilisés pour évaluer l'atteinte hépatique.
 - II - 3 - 1 Transaminases GOT et GPT sériques.
 - II - 3 - 2 Lactate déshydrogénase sérique.
 - II - 3 - 3 Electrophorèses sur papier des protéines sériques.
- II - 4 - Intoxication au tétrachlorure de carbone.

DEUXIEME PARTIE : Les résultats.

Chapitre I : Etude de la demi-vie de la sérum-albumine radioiodée.

I- 1- Chez les lapins témoins.

I- 2- Chez les lapins :

I - 2 - 1 irradiés, en fonction :

-des doses de rayonnements gamma

-de l'intervalle de temps qui sépare l'irradiation de l'injection d'albumine.

I - 2 - 2 intoxiqués au tétrachlorure de carbone en fonction :

-de l'intervalle de temps qui sépare l'irradiation de l'injection d'albumine.

Chapitre II : Etude des enzymes sérique (GPT, GOT ; LDH)

II- 1- Chez les lapins irradiés

en fonction :

-de la dose d'irradiation

-du temps.

II- 2- Chez les lapins intoxiqués au tétrachlorure de carbone.

en fonction du temps.

Chapitre III : E lectrophorèses sur papier des protéines sériques.

III- 1 - Chez les lapins irradiés

en fonction :

-de la dose d'irradiation

-du temps.

III- 2- Chez les lapins intoxiqués au C Cl₄

en fonction du temps.

C) DISCUSSION

CONCLUSION.

A) GENERALITES

I) METABOLISME DES PROTEINES PLASMATIQUES.

ALBUMINE SERIQUE ET INTEGRITE

HEPATIQUE

1) Anabolisme.

Les concepts modernes de la biochimie font apparaitre que les différents composants de l'organisme sont continuellement dégradés, et leurs produits de dégradation réutilisés pour la synthèse de nouveaux composés.

Le parenchyme hépatique est l'un des tissus où il apparait le plus grand nombre de processus biochimiques et de transformations métaboliques. On connaît en effet la pluralité des fonctions du foie et son intervention dans la plupart des mécanismes de stockage et de régulation de l'organisme. Il est à cet égard significatif de remarquer le caractère rapidement mortel de l'hépatectomie totale et d'observer, après une agression aigue ou une hépatectomie partielle, la capacité de régénération des cellules hépatiques. En plus d'une activité phagocytaire considérable, c'est à ce niveau que sont fixées et catabolisées en majorité des substances biologiques ou non, les protéines en particulier, et de nombreux composés apportés par la veine porte après leur absorption intestinale.

Les réactions chimiques mises en jeu sont pour la plupart énergétiques (oxydations, hydrolyses etc...), mais la plus grande partie de l'énergie libérée est en général utilisée immédiatement pour la synthèse de diverses substances endogènes. Carrefour de tous les métabolismes, le foie est le siège d'un travail biochimique extrêmement important, grâce à ses cellules particulièrement riches en mitochondries - sièges de nombreuses synthèses biochimiques en raison de leur équipement enzymatique, des microsomes et des lysosomes.

Ainsi ces cellules synthétisent, dégradent et transforment protéides, lipides, glucides et leurs métabolites ; elles jouent également un grand rôle dans le métabolisme respiratoire, les phosphorylations oxydatives, et interviennent dans le métabolisme hydrique et hydrominéral.

Parmi toutes ces fonctions, nous ne retiendrons, dans le cadre de ce

travail, que le rôle joué par le foie dans le métabolisme protéique.

La glande hépatique est le principal lieu de mise en réserve des protéines ainsi que celui de l'élaboration de la plupart des protéines plasmatiques, délivrant à la périphérie des produits complètement élaborés, " finis ", tels le fibrinogène et l'albumine.

Ces dernières années, plusieurs expérimentations ont mis en évidence cette activité hépatique. C'est ainsi que l'on a pu montrer que si l'on perfuse un foie de rat avec du glyco-colle marqué au carbone 14, on trouve dans le sang efférent, sous forme radio-active, l'albumine, tout le fibrinogène et 80 % des globulines sériques (110).

De plus, des observations cliniques et expérimentales ont permis d'établir que de nombreux acides aminés libérés par la digestion intestinale atteignent le foie par la veine porte et que quelques uns sont réutilisés pour la synthèse des protéines plasmatiques.

Ainsi, le pouvoir de synthèse du foie suffirait au renouvellement quotidien de 9 % environ des protéines hépatiques et de 25% des protéines circulantes.

A l'heure actuelle, il est admis que la synthèse protéique n'est pas séparable de la vie de la cellule, et est nécessaire aux échanges et aux renouvellements qui en assurent la multiplication.

La fraction albumine est la plus abondante de toutes les protéines retrouvées dans le sérum des animaux, et plusieurs auteurs ont prouvé de façon certaine que sa synthèse se fait essentiellement au niveau du foie, ce qui rend compte de l'intérêt des recherches effectuées pour en étudier le mécanisme. Des observations ont fourni la preuve que cet anabolisme s'opérait dans les cellules parenchymateuses alors que les globulines seraient synthétisées dans les cellules de KUPFFER (112).

Pour WHIPPLE et MADDEN (164), aucun autre système cellulaire ne pourrait même être impliqué dans cet anabolisme.

Il s'agit il est vrai de travaux relativement anciens, (1940), mais qui ont pu être confirmés par des recherches plus récentes portant sur les systèmes

subcellulaires hépatiques (60).

Par ailleurs, CAMPBELL et STONE, en 1957 (29), ont mis en évidence un pouvoir anabolisant protéique dans une tumeur hépatique, si bien qu'il est éventuellement possible d'étudier la synthèse de la même protéine spécifique par le tissu néoplasique et son tissu d'origine (29).

Toutes ces recherches ne laissent pas de doute sur le fait que le foie est la source majeure de la sérum albumine. Certains travaux ont mis en lumière cependant que ce n'était pas la seule origine possible. ABDEL-SAMIE et Coll (1) ont montré que le tissu mésenchymateux de l'embryon de poulet et une tumeur tissulaire humaine de type Hela étaient capables de synthétiser certaines protéines dont la sérum albumine.

Deux techniques d'étude distinctes, maintenant bien codifiées, ont permis aux recherches sur la biosynthèse de la sérum albumine de se développer :

- C'est tout d'abord les connaissances acquises sur la séparation cellulaire par centrifugation différentielle. On sait, à partir de cellules broyées, séparer les noyaux par une centrifugation lente, les mitochondries à 10.000 G pendant 10 à 15 minutes ; les microsomes à 100.000 G pendant soixante minutes, le surnageant obtenu étant la fraction soluble de la cellule dont on sait qu'elle contient également des facteurs indispensables à la synthèse protéique : c'est le cytoplasme soluble ou "cell sap" des Anglo-saxons.

- En second lieu, il est remarquable de constater que l'analyse de la synthèse protéique s'est précisée en milieu acellulaire avec les travaux de SIEKEVITZ, LITTLEFIELD ZAMENICK, HOAGLAND et de leurs écoles (64, 166).

C'est ainsi qu'ont été définies les modalités de l'incorporation d'acides aminés individualisés par le marquage radioactif (acides aminés marqués au carbone 14, à l'azote 15, au soufre 35 plus particulièrement) et les conditions permettant d'identifier la nature des facteurs et des fractions cellulaires qui participent aux synthèses protéiques. Ces données ont été le point de départ de deux principaux courants de recherche destinés à préciser quelles parties de la cellule hépatique interviennent dans la biosynthèse des protéines. On a tenté de caractériser *in vivo* et *in vitro* les fractions cellulaires au niveau desquelles s'effectue l'incorporation

des acides aminés marqués dans les protéines spécifiques, et on a cherché à mettre au point des systèmes biologiques modèles plus simples mais doués d'une activité comparable.

On retrouve dans la littérature scientifique, au cours de la dernière décade surtout, de nombreuses preuves de la synthèse hépatique des protéines plasmatiques qui, à l'exception des gamma globulines, au moins pour une partie d'entre elles, prennent naissance dans le foie. MAC FARLANE notamment a fourni les bases d'une telle étude dès 1957 (99) grâce à l'utilisation de protéines marquées.

Etudiant plus particulièrement la sérum albumine, quelques auteurs ont décrit des protocoles expérimentaux précis et assez facilement interprétables. Injectant un acide aminé au lapin (glycocolle marqué au carbone 13 et au carbone 14, ou mélange de lysine et d'acide glutamique marqués au carbone 14), FENN et Coll (119) trouvent un début de marquage de l'albumine plasmatique dès la vingtième minute qui suit l'administration de l'acide aminé marqué. Témoin de la synthèse hépatique, la radio-activité augmente linéairement pendant six à douze heures ; elle diminue ensuite rapidement en raison d'un équilibre entre les milieux intra et extra-cellulaire, puis de façon exponentielle, ce qui traduit une excrétion ou un catabolisme.

A l'aide de leucine marquée au carbone 14, JUNGBLUT (72) a apporté la démonstration de la synthèse ribosomique de l'albumine ; il a précisé en outre la cinétique et le mode de formation des différentes chaînes polypeptidiques. Cet auteur a pu isoler la sérum albumine à partir de fractions ribosomiques, microsomiques et mitochondriales du foie de rat. Grâce à des études encore plus fines, pénétrant dans l'intimité du phénomène synthétique, il a, en injectant de la leucine marquée au carbone 14 dans la veine porte, déterminé la radioactivité de l'albumine dans les différents éléments cellulaires ; cette fraction se retrouve dans les ribosomes une minute et demie après l'injection de l'acide aminé marqué, trois minutes après dans les microsomes et cinq minutes après dans les fractions cellulaires riches en lipides.

En conclusion, l'albumine serait synthétisée initialement dans les ribosomes et se lierait dans un second temps aux lipides pour traverser la membra-

ne de l'ergatoplasme (73). La chaîne polypeptidique serait formée par addition successive d'acides aminés à partir de l'azote terminal (74).

En fait, l'étude du lieu de formation, ribosomal ou microsomal de l'albumine, fait l'objet, encore à l'heure actuelle de nombreux travaux. Cependant, dès 1957, PETERS (122) avait pu préciser la nature de la liaison existant entre la sérum albumine et les différentes structures du microsome, en comparant l'intensité de production de l'albumine quand la capsule microsomale (séparée par centrifugation) était traitée avec différents réactifs. Ce sont en effet surtout les substances qui dissolvent les lipides qui permettent la libération de l'albumine (desoxycholate de sodium, lecithinase, acétone).

CAMFBELL (27) a également utilisé les ultra -sons pour libérer l'albumine cellulaire liée. L'albumine paraît donc être généralement en étroite association avec la membrane lipidique qui, selon les notions exposées dans la littérature est dissoute par le desoxy-cholate de sodium, laissant à l'état insoluble les particules de ribonucleoprotéines.

A cet égard, il convient de remarquer que la sérum albumine ne diffère d'aucune manière des autres protéines associées à la capsule microsomale, de nombreux antigènes étant libérés des microsomes de foie de rat par le desoxycholate de sodium (41, 120).

La fraction microsomale du foie a été reconnue pour être la partie de la cellule contenant le plus de sérum albumine : 0,36 mg. par gramme de foie de rat, alors que dans les noyaux cellulaires on en retrouve 0,01 mg. et 0,06 dans le cytoplasme soluble de la cellule (117, 118, 123, 137).

En outre la fraction microsomale isolée est capable de synthétiser la sérum albumine à condition de lui adjoindre une source d'énergie (ATF, phosphoénol pyruvate) et un peu de cytoplasme soluble. Il semblerait qu'alors, les composants de la membrane retiendraient la protéine nouvellement synthétisée, servant ainsi " d'agent d'exportation" de la protéine (27).

Ces données expérimentales ont été obtenues pour la plupart avec des fractions microsomales provenant de foie en régénération. Il avait d'ailleurs été prouvé que, après hépatectomie partielle, dans chaque étape de la régénération

hépatique, la priorité était donnée à la biosynthèse des protéines cellulaires (22, 6). C'est un fait important plaçant en faveur de la synthèse hépatique de la sérum albumine.

Toujours à cet égard (25), on a pu, dans un foie de rat en régénération, à l'aide d'acides aminés tritiés (Phénylalanine et DL Lysine) décomposer le phénomène en deux phases :

- la première, jusqu'à la neuvième heure, correspondait à une augmentation des protéines radioactives du foie sans augmentation parallèle des protéines totales :

- la seconde, de la sixième à la vingt huitième heure, voit augmenter simultanément les protéines radioactives et les protéines totales (25).

Mais les microsomes sont-ils les seules particules capables de synthétiser de la sérum albumine? C'est la question que se sont proposés de résoudre plusieurs chercheurs surtout en ce qui concerne le matériel ribosomal cellulaire. Les ribosomes sont constitués par le résidu de traitement des microsomes par le desoxycholate de sodium et sont encore appelés particules de ribonucléoprotéines.

En utilisant comme test l'incorporation d'acides aminés, ZAMENICK et KELLER (166) ont admis que les ribosomes préparés dans les conditions expérimentales rappelées plus haut étaient inactifs in vitro. Mais des communications ultérieures ont fait état de préparations actives, à condition de bien éliminer tout le desoxycholate de sodium, d'ajouter du cytoplasme soluble (et sa fraction pH 5) et d'opérer en présence d'une source d'énergie (80, 83, 89, 128, 155). En fait selon CAMBELL (27, 28), les ribosomes présentent bien une activité synthétique mais quantitativement bien moindre (au moins quatre fois) que celle des microsomes.

En visageons rapidement le problème de la spécificité de la synthèse de l'albumine par la fraction microsomale hépatique isolée.

* Cette phase a été interprétée comme un état préparatoire de renouveau hépatique par synthèse des enzymes nécessaires.

On sait que le cytoplasme soluble, "cell sap", est nécessaire à l'incorporation des acides aminés dans les protéines microsomales, et que le RNA soluble qui y est contenu contrôle d'une certaine manière la nature de la protéine synthétisée (64).

Mais, en dépit du fait que les microsomes de rat mis à incuber en présence de cytoplasme soluble de canard soient capables de synthétiser un peu de sérum albumine spécifique de cette dernière espèce, CAMPBELL a montré que la spécificité de la sérum albumine synthétisée par la fraction microsomale isolée du foie de rat n'est pas influencée par la nature du cytoplasme soluble qui a été introduit dans le milieu d'incubation (27).

D'autre part, bien que la synthèse des molécules protéiques soit extrêmement rapide, il a été prouvé, du point de vue dynamique, qu'il existe un laps de temps de quinze à vingt minutes entre l'incorporation d'acides aminés marqués dans les protéines et la libération de ces protéines par le foie. Durant la plus grande partie de ce temps, les protéines semblent être complètement formées, mais restent attachées au réticulum endoplasmique du cytoplasme. Après la synthèse particulière, la protéine serait transportée dans la cavité du réticulum, et emmagasinée jusqu'à sa libération sous l'effet des stimuli sécrétoires.

Il y a encore quelques années, les taux de synthèse des protéines plasmatiques étaient déduits, chez l'homme et les animaux de laboratoire, des mesures du catabolisme de l'équilibre protéique. C'est à MAC FARLANE (101) que revient le mérite d'avoir montré qu'on pouvait déduire les taux de synthèse protéique de la mesure de l'activité spécifique d'acides aminés précurseurs intracellulaires. °

° Si la valeur moyenne de cette activité spécifique est connue (soit P exprimée en microcuries par gramme) dans un intervalle de temps "t" durant lequel la nouvelle protéine contenant M grammes des précurseurs est produite, et si R microcuries sont produits ($R = P \times M$), le taux de synthèse M/t est égal à R/P .

De leur côté, REEVE et COLL. (126) ont défini à l'aide d'arginine marqué au carbone 14 sur le groupement guanidique un rapport des taux de pénétration de la radioactivité dans les protéines et dans l'urée, qui multiplié par le pourcentage d'utilisation de l'arginine pour la synthèse de l'urée, et par le rapport des poids protéines/arginine, donne le taux de synthèse protéique.

Cette méthode s'applique à l'albumine et à toute protéine plasmatique synthétisée en même temps que l'urée dans les cellules hépatiques. En effet les travaux de SWICK (154) ont bien montré que le carbone guanidique de l'arginine, échangé dans le cycle de l'urée ne peut être réutilisé, car pratiquement toute l'arginine qui entre dans ce cycle s'y intègre avant d'être incorporée dans les protéines (100).

2) "Turn-over" des protéines plasmatiques.

Les molécules protéiques sont soumises à un équilibre dynamique impliquant des échanges entre les acides aminés des protéines et les acides aminés libres. Il semble que l'on puisse avec FRUH (88) envisager deux hypothèses :

- ou bien les protéines sont soumises continuellement à des destructions et à des resynthèses sans que leur quantité varie avec le temps.

- ou bien il se produit des ouvertures de liaisons peptidiques sans distinction de la molécule protéique et il y aurait remplacement de certains acides aminés par d'autres molécules de ces mêmes amino acides.

Bien que cette dernière éventualité ne soit ni confirmée ni infirmée, on a souvent utilisé les protéines plasmatiques pour étudier la vitesse du turn-over protéique chez l'animal d'expérience.

Les protéines plasmatiques sont aisément "accessibles", les problèmes de prélèvements et d'isolement en quantité suffisante sont résolus sans dommage aucun pour le métabolisme général de l'animal d'expérience.

Malgré ces avantages, des difficultés demeurent :

Les protéines plasmatiques ne sont pas présentes uniquement dans l'espace intravasculaire ; on en a retrouvé de grandes quantités dans l'espace extravasculaire, et, bien qu'à des concentrations beaucoup plus faibles à l'intérieur de

cellules. Le rapport albumine extravasculaire/albumine intravasculaire est de 2,2 pour l'homme (151), 2,44 pour le lapin (38). La quantité de protéines présentes dans les cellules, quoique très difficile à déterminer est certainement très faible (68).

En outre, les protéines plasmatiques ne sont pas les seules capables d'incorporer un acide aminé marqué qui peut se retrouver à des concentrations variables dans toutes les protéines de l'organisme, cellulaires ou non. On conçoit ainsi combien il est difficile de déterminer avec précision le turn over de l'albumine (136), d'autant plus que les variations individuelles sont importantes d'un animal à l'autre, et pour le même animal dans le temps, même en opérant toujours dans des conditions soigneusement identiques.

Moyens d'étude du "turn over" des protéines plasmatiques.

La méthode de choix pour une telle étude est celle qui fait appel aux traceurs radioactifs.

Il peuvent être utilisés de plusieurs manières :

- Les protéines peuvent être marquées in vitro avec des éléments tels que l'iode 131, le chrome 51, la dichloroéthylsulfone marquée au soufre 35. Les résultats obtenus dépendent pour une large part du type de marquage. Ainsi, le taux de disparition des protéines iodées dépend de la quantité d'iode qui a été incorporée (38, 98), et est également influencé par l'altération éventuelle de la protéine considérée. Des observations identiques ont été faites avec la dichloroéthylsulfone marquée au soufre 35 (50). Si cependant la quantité d'iode mise en jeu est faible, de l'ordre d'un demi atome d'iode par molécule de protéine, celle-ci est dégradée par l'animal à un taux et à une vitesse identiques à ceux observés pour la protéine initiale (98).

- En faisant absorber des amino acides marqués avec du deutérium, du carbone 13, du carbone 14, du soufre 35, on peut marquer les protéines in vivo. Leurs métabolismes sont alors indépendants de la nature de l'isotope traceur sauf en ce qui concerne le deutérium (5).

Plusieurs protocoles expérimentaux ont été utilisés :

- administration d'une seule dose d'acides aminés marqués.

- administration d'une seule dose de protéine marquée, soit *in vitro* soit *in vivo* par l'intermédiaire d'un animal donneur auquel on a administré préalablement des acides aminés marqués.

- administration d'acides aminés marqués "en continu", par perfusion lente, ou par des injections répétées à des intervalles de temps constants (103, 119).

Avec la sérum albumine, les résultats sont identiques, qu'on injecte cette protéine marquée *in vitro* à l'iode 131 ou au soufre 35, ou qu'on ait introduit dans l'organisme des amino-acides en vue d'un marquage biosynthétique (48, 160, 162).

Un schéma a été proposé par PENN et Coll (119), d'après leurs résultats expérimentaux, comme modèle des interrelations de la biosynthèse, de la dégradation et de la distribution de la sérum albumine.

° En général, cependant, on trouve un "turn over" plus rapide lorsqu'on administre une protéine radioactive qu'avec les techniques faisant appel aux acides marqués (2, 5).

Notons rapidement, car nous y reviendrons, que de nombreux facteurs modifient le "turn over" des protéines : la nourriture (135) ; la déperdition de la masse sanguine qui provoque une synthèse protéique compensatrice, ainsi que l'effet similaire de perte d'albumine par l'urine en cas de néphrose (108) ; les rayons X, le méthylcholantrène, et les corticoïdes inhibiteurs de la synthèse protéique (47, 139) ; l'état physiologique des sujets rentre aussi en ligne de compte : les menstruations (36) et certaines tumeurs malignes (6) modifient sensiblement les résultats.

3) Devenir et catabolisme de la sérum albumine.

Il paraît intéressant, dans le contexte du métabolisme protéique, d'envisager le devenir des protéines plasmatiques.

En fait, si l'on connaît relativement bien la synthèse, on est moins renseigné sur les mécanismes de dégradation des protéines plasmatiques. On sait qu'il existe de nombreux enzymes protéolytiques (cathepsines) présents à l'intérieur de la cellule, capables d'hydrolyser les protéines en libérant leurs acides aminés constitutifs, ce processus ne nécessitant pas d'énergie. Cependant, il est apparu que ces enzymes avaient une activité très faible au pH cellulaire, et l'existence d'autres systèmes énergétiques est une éventualité qui n'est pas exclue (5).

Lors de perfusions de foie de rat, on a retrouvé un taux de catabolisme de l'albumine de l'ordre de 1 à 1,5 mg. d'albumine par heure, ce qui représente approximativement le huitième du taux in vivo (58).

Comme son anabolisme, le catabolisme de l'albumine semble se produire en grande partie dans le foie (10, 11, 63, 131) ; l'intestin et les reins n'auraient qu'un rôle secondaire (54).

COHEN et GORDON(37) ont montré que le parenchyme hépatique du rat pouvait cataboliser 13 à 15 pour cent du pool protéique total chez un animal sain. L'injection d'agents qui détruisent le système réticulo endothélial, tels de grandes quantités d'encre de chine, du dioxyde de thorium, réduisent le catabolisme de l'albumine de façon appréciable in vivo, alors que la cortisone l'augmente (134).

Les études effectuées à l'aide de traceurs radio-actifs ne permettent plus de retenir l'hypothèse faisant des protéines plasmatiques les "récursseurs" des

protéines tissulaires (50). On admet maintenant que les protéines sériques sont catabolisées en acides aminés ou peut-être en petites molécules peptidiques qui sont alors utilisées pour la synthèse de protéines intracellulaires. En particulier il a été démontré que la sérum albumine n'était pas directement transformée dans le foie en ferritine ou en d'autres protéines dans le pancréas (75, 94).

Enfin, on s'est aperçu que l'albumine pouvait fort bien se transformer en une autre protéine plasmatique : in vitro et dans le foie on a rapporté sa transformation en alpha globuline (131).

Dans notre travail, nous avons tenté d'objectiver le catabolisme de la sérum albumine en déterminant la demi-vie biologique de cette protéine, c'est-à-dire le temps nécessaire à la disparition de la moitié des molécules de sérum albumine autologue de lapin marquée à l'iode 131 et injectée par voie veineuse à l'animal.

4) Choix de la sérum albumine

La sérum albumine est quantitativement la protéine sérique prédominante et une diminution du taux des protéines se manifeste presque toujours par une diminution de la concentration de l'albumine sérique.

Elle possède trois fonctions importantes dans l'organisme en agissant :

- comme moyen de transport vers les cellules de produits métabolisés par d'autres cellules (acides gras libres, bilirubine, hormones etc...)
- avec un poids moléculaire d'environ 69.000 (33) elle est responsable de 80 pour cent de la pression colloïde-osmotique du sang circulant.
- comme protéine de réserve, sa dégradation en acides aminés permet la synthèse des protéines cellulaires.

En outre, l'albumine circulante est en général en rapport étroit avec la réserve des protéines totales de l'organisme, si bien qu'une diminution d'un gramme d'albumine intravasculaire correspond à une perte de trente grammes de protéines totales.

- Chez l'homme à l'état normal, dix à douze grammes d'albumine sont synthétisés par le foie en vingt quatre heures, et il a été prouvé que cet organe était éventuellement capable de tripler sa capacité de synthèse et de fournir jusqu'à trente à

trente cinq grammes d'albumine par vingt quatre heures.

Dans le même temps, dix à douze grammes sont catabolisés en libérant des acides aminés qui, avec ceux provenant de la ration alimentaire sont utilisés au moins partiellement, à la resynthèse hépatique de l'albumine. °

- Au point de vue structural, l'albumine est une longue chaîne de 550 résidus d'acides aminés sans reste prosthétique. Suivant l'espèce animale, le chaînon terminal est un reste leucine, alanine, ou valine (124).

- Purifiée, elle est suffisamment homogène pour être cristallisée (le développement de cristaux qui est toujours très lent peut être accéléré par addition de petites quantités d'ions Hg^{++} ou de dodécanols). Les cristaux ainsi formés ne sont pas absolument homogènes du point de vue chimique : il existe de grands espaces dans le réseau du cristal dans lesquels peuvent être emprisonnées de l'eau ou d'autres petites molécules.

Il est ainsi possible que de nombreux groupes de chaînes latérales s'entourent de dipôles hydriques et que les liaisons peptidiques des chaînes principales soient plus réactives. Pour cette raison, la molécule d'albumine s'entoure d'une épaisse enveloppe d'eau qui lui confère une grande solubilité dans l'eau ainsi qu'une stabilité particulièrement grande.

Ces deux propriétés fondamentales rendent son isolement particulièrement aisé. De plus, cette stabilité permet une stérilisation à 60°C par chauffage. En outre, par ioduration il est possible de fixer jusqu'à soixante quatre atomes d'iode par molécule de protéine (165). Dans ce cas, les dix neuf groupes tyrosyles et la majorité des seize groupes histidyles sont alors substitués.

Toutes ces raisons ajoutées à la principale qui reste sa synthèse électivement hépatique ont fait que nous avons choisi d'étudier le "turn over" et plus

° A ce sujet, un fait intéressant et significatif, est que la muqueuse intestinale semble jouer indirectement un rôle important dans la resynthèse hépatique de l'albumine, presque tous les acides aminés administrés par d'autres voies que la voie entérale sont incapables de maintenir un taux d'anabolisme normal de l'albumine (18).

particulièrement le catabolisme de la sérum albumine.

Dans cette étude, il ne faut pas perdre de vue que le métabolisme de l'albumine est influencé in vivo par de nombreux facteurs, plus particulièrement de nature hormonale, soit en faveur d'un anabolisme accru (hormone somatotrope, androgènes, insuline) soit d'une exagération du catabolisme (hormones thyroïdiennes, corticostéroïdes).

Nous avons vu d'autre part que ce dernier pouvait être perturbé par synthèse insuffisante ou déperdition trop importante de protéines normales ou pathologiques et nous essayerons de tenir compte de tous ces facteurs dans l'interprétation de nos résultats.

II) EFFETS GENERAUX DES RADIATIONS IONISANTES SUR LES DIFFERENTS METABOLISMES

Etude particulière du métabolisme protéique de l'animal irradié

Le terme de " radiations ionisantes " englobe les rayons X et gamma, les rayonnements alpha et bêta (d'une façon générale toutes les particules chargées) et les neutrons. Le même terme générique englobe ces différents rayonnements parce qu'ils ont en commun un certain nombre de propriétés, en particulier celle de provoquer directement ou indirectement (neutrons) des phénomènes d'ionisation au cours de leur absorption dans la matière.

L'action sur l'organisme des radiations ionisantes a été connue dès la découverte des rayons X et des corps radioactifs par les affections dont furent parfois atteints les radiologues et les chimistes qui manipulèrent les premiers les radioéléments. Depuis cette époque, de très nombreux travaux ont porté sur les effets biologiques des radiations ionisantes. Bien des inconnues demeurent ; on sait toutefois qu'elles agissent au niveau de la cellule en lysant certaines structures élémentaires et en causant ainsi, soit des perturbations fonctionnelles plus ou moins importantes, soit la mort de la cellule si des structures essentielles ont été détruites.

Les manifestations cliniques et biologiques qui apparaissent à l'échelle de l'organisme et notamment au niveau des constantes sanguines, ne font que traduire ces lésions cellulaires.

Chez un sujet irradié, on peut observer schématiquement deux sortes d'effets :

- des effets somatiques chez l'individu irradié lui-même.
- des effets génétiques que l'on observe dans sa descendance.

C'est évidemment dans le cadre des premiers que se placeront les déterminations que nous avons été amenés à pratiquer. Celles-ci ne peuvent cependant se concevoir que dans un contexte général, ce qui va nous conduire à rappeler quelques notions fondamentales sur l'action biologique des radiations ionisantes.

Les caractéristiques en sont les suivantes :

- 1) absence de spécificité des lésions produites par les radiations.

2) temps de latence que mettent les lésions à apparaître.

3) radio-sensibilité de l'être vivant soumis à l'action des radiations.

I - Les effets induits par les radiations ionisantes ne sont pas spécifiques : les caractères d'une anémie, d'une leucémie radio-induite ne diffèrent en rien du caractère habituel de ces affections. Les phénomènes locaux ou généraux constatés à la suite d'une irradiation (inhibition enzymatique, altération de la membrane cellulaire, dénaturation des protéines, mutations génétiques etc. . .) peuvent se retrouver par exemple au cours d'autres intoxications et de divers états pathologiques.

2 - Ces effets n'apparaissent qu'un certain temps après l'action des radiations, c'est le temps de latence, et il est classique de distinguer des effets à court, moyen et long terme.

Dans le cas le plus simple de l'étude des effets létaux d'une irradiation aiguë, on observe notamment une distribution trimodale de la mortalité ce qui a amené à déterminer une dose létale au trentième jour chez la souris et après quatre-vingt dix jours chez le rat.

3 - D'autre part, la radio-sensibilité varie considérablement d'une espèce animale à l'autre, et dans la même espèce suivant les races et souches soumises aux essais. Les radio-sensibilités cellulaires et tissulaires sont également très différentes. Les variations, semble-t-il, vont de pair avec une différenciation plus poussée et un métabolisme accru. Les organismes monocellulaires par exemple sont très radio-résistants :

il faut 250.000 rads pour observer une mitonécrose chez les paramécies, 10.000 rads pour avoir un effet léthal sur le bacille pyocyanique, 1350 rads pour arrêter le développement d'un oeuf d'ascaris, alors que quelques unités suffisent à enrayer le développement de certaines cellules souches des lignées hématopoïétiques.

Dans le cas de l'irradiation d'une cellule, les lésions observées peuvent porter sur des molécules très diverses, les unes indispensables à l'économie cellulaire et d'autres d'un intérêt moins vital. Ceci explique l'aspect multiforme des

lésions radiobiologiques ; l'irradiation d'une population cellulaire, même à des doses très faibles, pourra entraîner la mort de quelques cellules, alors que d'autres ne présenteront que des modifications transitoires ou permanentes de leurs métabolisme.

Néanmoins chez un même animal, les effets produits sont fonction de la dose reçue, toute matière vivante soumise à de fortes doses de radiations subissant des altérations d'autant plus profondes que la quantité d'énergie absorbée a été plus grande.

Mais si les mécanismes physiques responsables de l'absorption des radiations ionisantes peuvent varier d'un rayonnement à l'autre, ils se traduisent en fin de compte par des effets biologiques identiques. Il n'a pas été constaté de différences qualitatives entre les réactions anatomopathologiques et biologiques à des doses équivalentes de rayons X gamma, bêta, neutrons lents et rapides. °

On connaît à l'heure actuelle de nombreuses actions biologiques dues à l'administration d'une dose unique de radiations X ou gamma . °°

- les lésions cutanées (érythème, épilation, desquamation, ulcération) sont bien connues. Si les doses sont suffisamment importantes, on peut observer l'apparition de tumeurs malignes (surtout avec des radiations peu pénétrantes comme les rayons bêta).

- sur le sang et les organes hématopoiétiques, les actions sont multiples et varient en fonction des doses administrées.

- coagulation : avec de fortes doses de radiations le schéma général observé est un allongement des temps de saignement et de coagulation, une fragilité capillaire augmentée et une mauvaise rétraction du caillot.

° Dans nos différentes expérimentations nous avons uniquement pratiqué des irradiations de type gamma au Cobalt 60.

°° C'est volontairement que nous n'avons pas mentionné les effets génétiques des radiations pour nous limiter à l'étude des grands métabolismes de l'organisme et plus particulièrement le métabolisme protéique.

- formule sanguine : à moins de très fortes doses (plus de 1000 rads), il n'y a pas d'action des radiations sur les éléments déjà formés, les modifications induites résultent essentiellement d'une atteinte des cellules souches de la moelle osseuse. A la suite d'une exposition à de petites doses de rayonnement, des désordres mineurs apparaissent chez l'homme : leucopénie avec neutropénie sont de règle, mais on peut observer également de façon transitoire une leucocytose avec éosinophilie due à une excitation médullaire ; les effets sur la lignée erythrocytaire sont variables : il existe quelquefois une polyglobulie et rarement une anémie ; les taux de thrombocytes diminuent généralement.

A les doses plus importantes, le danger existant est une aplasie globale (c'est la "moelle lavée" des hématologistes) ou partielle avec séparément ou concurremment anémie macrocytaire, agranulocytose, pupura thrombopénique.

Mais le risque majeur de l'irradiation de l'organisme reste les leucoses la leucose myéloïde étant la plus fréquente, la leucose lymphoïde exceptionnelle.

- Action sur le foie

Une irradiation totale ou partielle de l'organisme provoque une altération du parenchyme hépatique dans sa structure et par conséquent dans ses fonctions. Chez des rats irradiés à 1.000 rads on voit se développer dans le foie de petits foyers de nécrose, une vacuolisation du cytoplasme, des altérations de la structure nucléaire et des mitoses atypiques (76).

On a même observé chez des malades irradiés pour des tumeurs mammaires ou utérines, une élévation pathologique des valeurs du test à la bromo sulfone phtaléine (87, 113).

La régénération chez un animal partiellement hépatectomisé est considérablement ralentie par rapport aux témoins (93, 150) ; on a remarqué que vingt quatre heures après hépatectomie partielle ou intoxication par le tétrachlorure de carbone, une importante synthèse d'ADN se fait jour alors même que la division cellulaire n'est pas encore commencée. Si dans ces conditions, on irradie des rats (800 rads sur tout le corps), on constate une inhibition de la synthèse d'ADN si l'irradiation a été effectuée douze heures après administration de tétrachlorure de carbone. Par contre, même une irradiation à 2.000 rads ne peut inhiber cette

régénération tissulaire quand elle a commencé. Si l'irradiation a lieu avant intoxication, on observe simplement au delà de vingt quatre heures, un retard dans la synthèse de l'ADN (65).

On conçoit dans ces conditions que les altérations subies par le foie se traduisent par des modifications importantes à différents niveaux.

Toutes les cellules et par suite tous les appareils et organes peuvent être altérés chez le sujet irradié. Certains effets sont précoces ; ainsi, quelques minutes seulement après irradiation, on a pu déceler des modifications cytochimiques et fonctionnelles dans les cellules nerveuses (32).

Mécanismes d'action.

Limités au parenchyme hépatique, les effets d'une irradiation totale sont déjà multiples. On conçoit ainsi la complexité de l'image biochimique résultant d'une irradiation totale ou partielle d'un sujet : durant la période aiguë de la maladie, il est difficile de trouver une fonction qui ait conservé son intégrité.

Pour tenter d'expliquer l'action des radiations ionisantes au niveau cellulaire BACC, ALEXANDER (7) et KOUCIN(86) ont émis indépendamment l'hypothèse de la "libération des enzymes" et de la "déscoordination des fonctions

enzymatiques". Provoquant la lésion de micro-structures cellulaires, l'irradiation aurait pour effet d'en libérer les enzymes. Toutefois, une telle action n'a pu être mise en évidence in vivo qu'après exposition à des doses énormes de rayonnements (plus de 1.000 rads, et d'autres hypothèses doivent être évoquées. C'est ainsi que RODIONOV (132) a proposé de distinguer cinq groupes de modifications décelables immédiatement après irradiation sur des systèmes cellulaires isolés. Ce sont :

- l'activation de certains systèmes enzymatiques.
- l'apparition de réactions en chaîne et accumulation de peroxydes toxiques.
- l'inhibition de la phosphorylation oxydative dans les noyaux.
- l'inhibition de la synthèse protéique.
- la désactivation des enzymes à groupements SH des protéines du noyau.

Les variations observées dans les différents métabolismes à la suite d'une irradiation ont suscité de nombreuses recherches :

Déjà, au tout début de la réaction de l'organisme à une irradiation totale, on a noté une modification dans les mécanismes régulateurs neuro hormonaux ; en particulier, il a été trouvé une diminution des taux de cholestérol dans les capsules surrénales, sans que varie sensiblement pour autant la teneur en acide ascorbique (32).

Mais ce sont surtout les phénomènes d'oxydation, l'équilibre hydroelectrolytique de l'organisme, ainsi que les métabolismes glucidique, lipidique et protidique qui ont retenu l'attention des chercheurs.

- Phénomènes d'oxydation

Les phénomènes de phosphorylation oxydative diminuent dans les éléments cytoplasmiques des tissus des animaux irradiés ; cette inhibition semble être secondaire à l'activation de la fonction hypophysaire (12). Par contre, CREASY et STOCKEN ont noté une sensibilité extrême de ce processus dans les noyaux cellulaires : une irradiation totale des rats à une dose de 100 rads inhibe complètement la phosphorylation oxydative dans les noyaux des cellules de la rate, de la moelle osseuse, des ganglions lymphatiques, et de l'épithélium interne du tube digestif des animaux (40).

- Métabolisme glucidique

Chez les rats irradiés, il a été observé une variation rapide des taux de glycogène hépatique (augmentation puis diminution) ; une hyperglycémie s'installe rapidement, mais est en général suivie d'hypoglycémie dont l'amplitude et l'évolution seraient fonction de la dose de rayons reçue par l'animal (106). Il semble d'une manière générale que la gluconéogénèse soit accrue après irradiation, les quantités croissantes d'hydrate de carbone étant rendues disponibles par le catabolisme accru des protéines et par l'augmentation des phénomènes de transaminations (102). Mais ces variations sont étroitement liées à l'état du système endocrinien, une irradiation aux rayons X produisant par exemple une réponse pituitaire importante avec libération excessive d'ACTH (14) ; ainsi, la plupart des auteurs ramènent-ils ces atteintes du métabolisme glucidique à des effets secondaires.

- Métabolisme lipidique

Une concentration élevée des lipides dans le sérum des animaux irradiés témoigne d'une perturbation de leur métabolisme (4) ; il en est de même d'une incorporation accrue de l'acétate marqué au carbone 14 dans les acides gras et le cholestérol hépatique, et de l'augmentation de la vitesse de renouvellement des phospholipides du foie, conséquence de la perturbation du cycle des phospholipides entrant dans la composition des structures subcellulaires (132).

- Equilibre hydroélectrolytique

Les troubles de l'équilibre hydroélectrolytique sont liés, semble-t-il, au syndrome gastrointestinal qui suit, chez l'animal, une irradiation corporelle

totale. Si pendant deux à trois jours l'eau tissulaire et le volume sanguin varient peu (97), on observe à la phase terminale du syndrome une forte deshydratation et un volume sanguin diminué de cinquante pour cent ou plus (95, 96, 97).

En général lorsque la phase diarrhéique est atteinte, les animaux deviennent polydipsiques et il y a rétention liquidienne surtout par le colon (69) ainsi que des fuites considérables de sodium et à un moindre degré de potassium. Cette perte hydroélectrolytique est due à un défaut d'absorption intestinale qui accompagne l'irradiation (20, 31).

La fonction rénale peut également être en cause dans ces troubles de l'équilibre hydrominéral ; des néphrites ont été décrites après irradiation de l'animal à plusieurs centaines de rads (145) et rapportées à une altération fonctionnelle des tubuli (170).

Il semble cependant que les reins n'aient qu'un rôle secondaire dans ces perturbations de l'équilibre hydroélectrolytique (15).

- Métabolisme protéique -

L'action des radiations ionisantes, plus particulièrement d'un rayonnement X ou Gamma sur les protéines plasmatiques a suscité de nombreuses recherches.

- in vitro, les effets dénaturants d'une irradiation X ont été mis en évidence par des méthodes telles que l'ultracentrifugation et la spectrophotométrie dans l'ultraviolet (44, 81, 133) ou plus simplement par des modifications de la vitesse de sédimentation (130). Mais dans tous les cas, il s'agit de doses extrêmement élevées, de l'ordre de 1 à 5×10^5 rads.

- in vivo par contre, une telle atteinte peut être observée dans les premiers jours suivant une irradiation corporelle totale, à une dose infiniment plus faible (de l'ordre de 100 à 1.200 rads).

On conçoit facilement que le métabolisme protéique joue un rôle important chez les animaux dont les tissus ont été altérés par l'irradiation. La réparation des destructions tissulaires et la régénération des cellules lésées plus ou moins profondément ne peuvent s'effectuer que si une synthèse protéique reste

possible. Tout désordre dans cet anabolisme risque de retentir sur les phénomènes de restauration et, partant, sur la résistance de l'animal irradié.

Les auteurs s'accordent en général pour admettre que l'irradiation est suivie de bilans azotés négatifs ; l'animal irradié présente classiquement une anorexie et une perte de poids (71'), mais ces manifestations ne sont sans doute pas les seules en cause.

Un exemple parmi d'autres de l'altération du métabolisme protéique sous irradiation est celui de la production des anticorps ; en effet lorsque l'immunisation est effectuée dans les heures qui précèdent ou suivent l'irradiation, la formation des anticorps est nulle ou fortement retardée (16). On a pu mettre ainsi en évidence l'apparition de nouveaux antigènes dans les tissus d'animaux irradiés (132). Chez ces derniers, il a d'autre part été constaté de nombreuses variations qualitatives et quantitatives dans la composition des protéines sériques ; il a été observé notamment par électrophorèse et immunoelectrophorèse une chute importante de l'albumine sérique compensée ou non par une augmentation des alpha, bêta et parfois gamma globulines (3, 34, 42, 52, 61, 82, 85, 91, 92, 107, 138, 142, 143, 146, 152, 156, 161).

Objectivée par leur résistance à la chaleur, la structure physique des protéines sériques serait également atteinte (104).

Ces phénomènes ont été observés aussi bien à la suite d'une irradiation aigue que chronique et il a été en outre noté la formation de fractions globuliniques anormales, électrophorétiquement proches, mais distinctes des alpha et bêta globulines (8, 57, 115). Des hypothèses ont été émises sur l'origine de ces fractions pathologiques ; selon RODICNOV (132), la possibilité d'une transformation directe de l'albumine en alpha globuline ne serait pas exclue. N'apparaissant que dans les jours qui suivent l'irradiation, ces modifications qualitatives sont durables et ont encore été retrouvées chez le chien plusieurs mois après une irradiation sub létale (57) , ce qui donne à penser que leur origine est liée à une atteinte prolongée de processus métaboliques portant principalement sur la biosynthèse de l'albumine et des globulines.

Les effets ne sont pas identiques d'une espèce animale à l'autre et

surtout leurs évolutions varient considérablement (167, 168, 169). Chez le rat, l'inhibition de la synthèse protéique a été mise en évidence dès le troisième jour suivant une irradiation à 900 rads ; elle atteint son maximum au neuvième jour de l'essai (120). A l'aide de méthionine marquée au soufre 35 FELC (116) et RICHMOND (129) ont montré que la synthèse des protéines du noyau était totalement bloquée après irradiation alors qu'était inchangée l'incorporation de cet acide aminé dans les protéines cytoplasmiques. L'influence de l'irradiation sur le cycle des acides nucléiques a également suscité de nombreuses recherches fondamentales. A la lumière des résultats obtenus, on admet généralement que les perturbations constatées au niveau de la synthèse de l'acide desoxyribonucléique sont essentiellement liées à une inhibition des mitoses, tout au moins in vitro, sur des cultures cellulaires. Un tel mécanisme n'est pas en contradiction avec les hypothèses proposées par RODIONOV et que nous avons rapportées plus haut.

Il ne faut pas perdre de vue en effet que tous les facteurs qui contrôlent dans un organisme sain le métabolisme des protéines, en subissant sous irradiation des modifications plus ou moins importantes, sont capables d'induire par là même une pathologie particulière à un niveau quelconque de ce métabolisme.

Les effets observés ne sont pas cependant toujours en relation étroite avec les atteintes cellulaires. La radio-sensibilité de la muqueuse intestinale est bien connue ; il semble néanmoins que l'absorption digestive des éléments constitutifs des protéines ne serait pas perturbée chez l'animal irradié (13). On sait aussi que, chez un animal soumis à une irradiation totale, s'installe un syndrome endocrinien particulier, dont les éléments les plus caractéristiques sont la stimulation cortico-surrénalienne et la mise au repos de la thyroïde (15, 35). Les travaux de BETZ et JEHOTTE montrent bien que l'hypercorticisme provoqué par irradiation joue un rôle important dans le métabolisme azoté : il est responsable notamment de l'augmentation du catabolisme protéique, objectivé par des bilans azotés négatifs, qui s'observe chez le rat au cinquième jour de l'essai (17).

Pour étudier les variations des différents métabolismes dans un organisme irradié, il n'est pas dénué d'intérêt de suivre les modifications des constantes biologiques sanguines, si l'on peut admettre qu'elles sont un reflet des altérations cellulaires subies au niveau des différents organes.

Si les modifications qualitatives et quantitatives qui apparaissent dans la teneur en protéines du sérum dans les jours qui suivent une irradiation totale ont fait l'objet de travaux rapportés plus haut, il semble que l'étude du catabolisme de la serum albumine et des autres protéines plasmatiques n'ait intéressée jusqu'ici qu'un très petit nombre de chercheurs.

A notre connaissance du moins, seul le cas du fibrinogène a été étudié par SHABER et MILLER (141) ; ces auteurs n'ont trouvé chez le rat, après exposition à une dose unique de 900 rads, aucune modification du "turn over" du fibrinogène marqué à l'iode 131, dont la demi-vie est de l'ordre de 1,5 jours.

Ces considérations nous ont incité à reprendre cette étude : notre choix s'est porté sur la serum albumine en raison du rôle quasi électif joué par le foie dans sa synthèse et de l'existence d'une relation étroite entre les modifications électrophorétiques des fractions protéiques du sérum et du tissu hépatique (105).

Nous avons en outre tenté de préciser le degré de l'atteinte hépatique sous irradiation, dont les effets ont été comparés à ceux d'un agent hépatotoxique, le tétrachlorure de carbone.

B) ETUDE EXPERIMENTALE

PREMIERE PARTIE : LES METHODES UTILISEES

CHAPITRE 1

1- 1 - SEPARATION DE LA SERUM ALBUMINE

Etudier le catabolisme de la sérum albumine autologue chez le lapin impliquait au préalable l'isolement de quantités suffisantes de cette protéine sérique.

De nombreuses techniques ont été proposées pour séparer l'albumine des autres constituants protéiques du sérum : d'abord la précipitation par les sels neutres sans utilisation de solvants organiques, avec le sulfate de sodium, le sulfate de magnésium et surtout le sulfate d'ammonium à demi saturation (77) ; mais les essais que nous avons pratiqué avec cette dernière technique ne nous ont pas permis d'obtenir une sérum albumine électrophorétiquement exempte d'impuretés globuliniques ou salines.

Nous avons aussi envisagé la possibilité d'utiliser les "gels séphadex" qui permettent de fixer les protéines sériques, ensuite sélectivement éluées à l'aide de solutions salines diluées (49, 53, 55, 79). Mais si dans ce cas, il est possible de recueillir des fractions protéiques très pures, les volumes d'éluant utilisés pour isoler quelques milligrammes de sérum albumine sont relativement très importants, et cette technique nécessitant la concentration et la dialyse de l'éluat se serait avérée d'une application délicate dans le cadre de l'expérimentation envisagée.

Nous nous sommes ensuite tournés vers les techniques employant la précipitation par des solvants organiques. Plusieurs méthodes ont été publiées, mettant en oeuvre l'éthanol, et jouant sur les variations de pH, de température et de force ionique. C'est le principe des méthodes de COHN, dont la méthode 10 par exemple permet d'isoler un grand nombre de sous fractions de protéines très purifiées. Applicables surtout à l'échelon industriel ou semi industriel, ces procédés n'ont pu être valablement adaptés à notre étude.

Notre choix s'est porté en définitive sur une technique décrite par KORNBERG et DEBRO (84) dérivée de celles de DELAVILLE et DELAVILLE (43) et de MAC FARLANE (98), et basée sur la solubilité de la sérum albumine dans l'éthanol,

après précipitation des protéines totales par l'acide trichloracétique. Après plusieurs essais que terminait chaque fois un contrôle électrophorétique, nous avons été amenés à modifier quelque peu le protocole opératoire original, de façon à pouvoir traiter un petit volume de sérum, et à chaque opération isoler une quantité d'albumine de l'ordre de quelques dizaines à quelques centaines de milligrammes.

Technique d'isolement de la sérum albumine chez le lapin

Premier temps : Extraction de l'albumine

- Prélever du sang total de lapin sain, soit par ponction veineuse (veine marginale de l'oreille) ou par ponction artérielle (carotidienne ou fémorale) soit si l'on désire des quantités de sang de l'ordre de 100 à 200 centimètres cubes, par ponction intracardiaque.

- Prendre toutes les précautions nécessaires pour éviter l'hémolyse : (aiguilles, seringues, récipients très secs, ; éviter les traumatismes veineux ou artériels).

- Après coagulation, centrifuger pour séparer le sérum du culot globulique (15 minutes à 5.000 tours / minute).

- Puis, dans de gros tubes à centrifuger (20 ml fond rond) , introduire successivement :

- . 1 volume de sérum de lapin
- . 10 volumes d'alcool absolu contenant 1 pour cent d'acide tri-chloracétique (poids/volume).

- Après trente minutes de contact à la température du laboratoire, centrifuger 30 minutes à 5.000 tours/minute.

- Séparer par décantation le surnageant alcoolique (contenant l'albumine) du culot globulinique.

- Cette solution très acide est ajustée à pH 7 à l'aide de NaCHN puis 0, IN (contrôle potentiométrique).

Deuxième temps : Mise en solution dans l'eau

Il s'agit maintenant de faire passer l'albumine en solution aqueuse en vue d'une lyophilisation ultérieure.

Nous avons tout d'abord essayé la dialyse contre l'eau distillée préconisée par KORNER et DEBRO (84), mais cette technique s'étant avérée beaucoup trop longue nous avons porté notre choix sur une évaporation sous vide partiel à 37° C, température suffisante pour évaporer l'alcool sans dénaturation de la fraction protéique.

Le mode opératoire est le suivant :

- A un volume de solution alcoolique, ajouter deux volumes d'eau bidistillée ; mélanger.
- A l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide, extraire l'alcool tout en maintenant la température à 37° C ; l'opération est arrêtée lorsque le volume résiduel représente environ 50 pour cent du volume initial.

Troisième temps : Lyophilisation

La solution aqueuse ainsi obtenue est prête (étant exempte d'alcool) à être lyophilisée. Cette opération a été pratiquée à l'aide d'un appareil USIFROID type MS 12. On obtient dans ces conditions un produit stable sous forme de paillettes blanc rose, qui se conserve parfaitement au réfrigérateur, à l'abri de l'humidité (il est préférable de paraffiner le bouchon et le col du flacon récipient) et est très facilement soluble dans un faible volume d'eau distillée. *

Contrôle qualitatif de la sérum albumine ainsi isolée

Nous avons vérifié la pureté de l'albumine et l'absence de globuline par électrophorèse sur papier (111). Les réactifs et l'appareillage utilisés sont les suivants :

- Tampon à pH 8,6 et de force ionique égale à 0,1

Véronal sodique	9,909 g.
Acétate de sodium cristallisé	6,476 g.
Solution décinormale d'HCl	60ml
Eau distillées	qsp 1.000 ml

- Migration 12 heures sous 110 V. dans un appareil type ELPHOR.

* Nous avons, pour la lyophilisation, réparti la solution aqueuse d'albumine dans de petits flacons type " pénicilline ", d'une contenance de quinze millilitres, renfermant environ 30 milligrammes d'albumine pure.

- Coloration au Vert lumière (20 minutes)

Vert lumière 0,131 g

Alcool à 95° 5 ml

Acide acétique pur 1 ml

Eau distillée 20 ml

- Décoloration

Acide acétique 3 ml

Eau distillée qsp 100 ml

Les résultats obtenus démontrent que les traitements effectués permettent bien d'isoler sélectivement la sérum albumine qui n'a subi par ailleurs aucune altération.

Contrôle quantitatif

Nous avons évalué quantitativement le taux des protéines totales et le taux d'albumine dans les sérums des lapins que nous avons utilisés pour la séparation de l'albumine, ainsi que le taux de l'albumine dans la solution aqueuse à lyophiliser.

Nous avons pu chiffrer ainsi le rendement de notre technique en utilisant la méthode décrite par KEYSER (78) qui combine les dosages de l'albumine par le méthylorange (BLACKEN et KLOTZ (21)) et le dosage des protéines totales par la réaction du biuret ; ce protocole opératoire permet une évaluation rapide et précise de l'albumine et des protéines totales dans de petites prises d'essai de sérum.

L'utilisation d'un "blanc" (tube témoin sérum utilisé ultérieurement pour le dosage des protéines totales) permet d'éliminer l'effet d'un léger hémolyse ou d'un trouble quelconque du sérum (ictérique par exemple).

La colorimétrie est effectuée à 550 m (pectrophotomètre " Spectronic 20 BAUSCH et LOMB).

La courbe d'étalonnage a été établie avec une solution d'albumine stabilisée et une dilution de " Lab-Trol " pour les protéines totales.

Mode opératoire

1 - Réactifs

- Méthyl orange : dissoudre 21,008 g d'acide citrique dans 1.000 ml de NaOH 0,2 N.

Ajouter HCl 0,1 jusqu'à obtention d'un pH de 3,5.

Ajouter 20 ml d'une solution à 0,1 % de méthyl orange à 1980 ml du tampon citrate.

Ajouter enfin 1 g de p-crésol comme conservateur.

- Tampon citrate : opérer comme ci-dessus.

- Réactif cuprique :

a) Solution mère : dissoudre 45 g de tartrate de sodium et de potassium dans 400 ml de NaOH 0,2 N. Ajouter 15g de $\text{SO}_4\text{Cu}, 5\text{H}_2\text{O}$;

Faire dissoudre complètement.

Ajouter 5g d'IK.

Compléter à 1.000 ml avec NaOH 0,2 N.

b) Réactif cuprique : diluer 50 ml de solution mère avec 250 ml de NaOH 1,5 N (le milieu alcalin est nécessité par la présence du tampon citrate à pH 3,5).

2 - Mode opératoire

Mettre dans un tube à essai sérum 0,1 ml

réactif méthyl orange 6 ml.

Dans un autre tube et parallèlement, mettre

Sérum : 0,1 ml

Tampon citrate : 6 ml

Effectuer une lecture des deux tube 550 m μ .

Pour avoir le taux de protéines totales, mettre le tube " blanc " 15 minutes à 37° C avec 0,5 ml de réactif au biuret.

3 - Résultats

Les résultats obtenus sur divers échantillons sont réunis dans le tableau 1.

Il en ressort que le rendement moyen de la méthode d'extraction que nous avons utilisée est de $82,9 \pm 3,2$ pour 100, rendement qui nous a paru satisfaisant pour utiliser ce procédé au cours de nos expérimentations.

TABLEAU -1 -

Sérums	PROTEINES TOTALES g. p l. 000	ALBUMINE SÉRIQUE g. p l. 000	ALBUMINE dans la sol. aqueuse g. p l. 000	RENDEMENT. p. 100
1	83	51	40	78,4
2	78,5	49,5	40,5	81,8
3	80,5	51,5	43	83,4
4	78	51	43	84,3
5	80	49	42	85,7
6	81,5	53,5	44	82,2
7	76,5	47	37	78,7
8	75	48,5	41	84,5
9	84,5	51,5	43	83,4
10	82	50,5	43,5	86,1
pool sérums	80	50	42	83,6

Il a évidemment été tenu compte des dilutions successives opérées dans la technique d'extraction.

I - 2 - MARQUAGE DE LA SÉRUM ALBUMINE A D'IODE 131

Désirant étudier le catabolisme de la sérum albumine, il était pour nous indispensable d'opérer avec de la sérum albumine autologue, pour éviter les phénomènes d'antigénicité.

Il nous fallait ainsi suivre cette sérum albumine afin d'étudier son " turn over " chez le lapin.

Deux raisons principales nous ont amenés à faire appel au marquage radioactif, et en particulier à l'iode 131 :

- l'affinité de cet halogène pour les protéines et la relative simplicité d'exécution de la réaction d'ioduration dont les conditions expérimentales ont été bien précisées par VEALL et VETTER (158) en 1958.

- les caractéristiques radioactives de cet élément (période de 8,05 jours, et rayonnement mixte bêta et gamma facilement détectable).

Plusieurs techniques ont été décrites pour l'ioduration des protéines, mais le problème essentiel est de ne pas altérer la protéine dans ses propriétés physiques, chimiques et biologiques (antigéniques en particulier). HUCHES et STAESSLE (67) ont montré qu'à condition d'opérer une ioduration ménagée (substitution de cinq à dix atomes d'iode pour une molécule de sérum albumine au niveau des radicaux tyrosyls), il n'y a pas d'altération de la molécule d'albumine. Pour effectuer le marquage, ces auteurs préconisent de faire réagir de l'iode libre sur une solution d'iodure de potassium, sur la protéine en milieu bicarbonate à pH 9,5 - 10.

D'autres libèrent l'iode d'un mélange iodure-iodate et l'ajoutent à une solution ammoniacale de protéine (99).

MAC FARLANE (98) a utilisé une technique libérant l'iode de l'iodure à l'aide de peroxyde d'hydrogène en présence de la protéine à neutralité.

Certains auteurs préfèrent, avant le marquage de la protéine, incorporer l'halogène dans un cycle aromatique ; on a utilisé à cette fin des composés du type $1 \text{ - } \text{X}$, (X étant $-\text{SO}_2\text{Cl}$ (157), NCO etc..., groupements qui réagissent avec les résidus d'acides aminés de la protéine) ou le chlorure de p-iodobenzesulfonyl (iodure de pipsyl). Mais s'il opère un marquage très stable, ce dernier dérivé est insoluble dans l'eau et nécessite la dissolution de la protéine dans un solvant organique (dioxane), occasionnant ainsi une altération en général importante de la protéine (66).

Nous avons utilisé la technique de DUMONT et GILLET (45), adaptation de la méthode de "jet iodination" décrite par MAC FARLANE (98) ; l'iode moléculaire réagit directement sur la protéine solubilisée dans un tampon glycolle à pH 9,3 ; l'iodure non fixé est éliminé par passage sur colonne échangeuse d'ions ce qui a en outre pour effet de diminuer l'alcalinité du milieu.

Dans cette technique, une ioduration ménagée permet de limiter le taux de marquage à un atome d'iode (ou moins) par molécule d'albumine, la fixation de l'halogène se faisant en ordre principal par substitution électrophile au niveau des radicaux tyrosyls de la protéine (66, 67).

Les avantages de cette méthode sont multiples :

- l'appareillage est conçu de façon à réduire le nombre des manipulations du produit radioiodé et leur durée à un total n'excédant pas une heure.
- les propriétés physicochimiques et biologiques de la protéine après marquage ne présentent aucun signe d'altération (absorption dans l'ultraviolet, pouvoir rotatoire, diagramme de sédimentation).
- les rendements radiochimiques d'au moins 10 pour cent sont suffisamment élevés pour obtenir une radioactivité spécifique convenable permettant d'effectuer valablement les essais envisagés.

Matériel et méthode

1 - Réactifs

- Sérum albumine de lapin lyophilisée (obtenue selon le protocole opératoire décrit dans le chapitre 11).

- Iode 131 sans réducteur ni entraîneur
de haute activité spécifique.
- NaI solution I 0,192 g. p 100 (p/v)
solution II 0,175 g. p 100 (p/v)
- NaIO₃ solution à 0,0554 g. p 100 (p/v)
- Tampon glycolle pH 9,3
glycolle 0,600 g.
NaCl 0,2 % 8 ml
NaOH N 2 ml

- Tampon histidine pH 6, 7

chlorhydrate d'histidine 2g.

NaOH N 9, 2 ml

Eau distillée 95, 0 ml

- Thiosulfate de sodium à 5 % (p/v)

- Na Cl 0, 85 % (p/v)

- Amberlite IR 45

La résine est soumise aux traitements successifs suivants

- Mise en contact durant deux jours avec Na OH N

- Lavage par décantation avec de l'eau distillée jusqu'à neutralité.

- Mise en contact durant deux jours avec HCl N.

- Lavage jusqu'à neutralité avec Na Cl 0, 85 %.

Elle est conservée à + 4° sur tampon histidine additionné de quelques gouttes de toluène.

2 - Appareillage

L'ensemble des opérations s'effectue dans un appareil en verre pyrex entièrement clos constitué des éléments suivants (cf Fig. I)

A - Ampoule destinée au mélange iodurant se prolongeant par un dispositif capillaire d'injection en B.

B - Ampoule contenant la solution d'albumine à iodurer.

C - Colonne d'amberlite IR 45 assurant le remplacement des divers anions I^- , IO_3^- , IO_3^- , par Cl^- ainsi que l'ajustage du pH.

Elle est munie à sa partie inférieure d'une bague de verrouillage en acier inoxydable. Au moment de l'emploi la résine (environ 650 mg poids humide) en suspension dans le tampon histidine est introduite dans la colonne et lavée avec 250 ml de Na Cl 0, 85 % (valeur finale du pH du liquide effluent : 6, 1 à 6, 3).

D - Dispositif de stérilisation et flacon récepteur en verre neutre (nous avons utilisé des flacons type "Pénicilline").

La stérilisation s'effectue par filtration sur " millipore " contenu dans la cartouche en acier inoxydable, celle ci étant reliée au flacon par l'intermédiaire d'une aiguille hypodermique qui traverse le bouchon du flacon récepteur.

Avant l'emploi l'ensemble D est autoclavé pendant 20 mn à 120°.

E - Trappe à Iode contenant un tampon d'ouate imbibé d'une solution de thiosulfate de sodium à 5 %.

• R_3 - Robinet à deux voies raccordées, l'une à une source d'air comprimé (0 à 200 mm de Hg) par rapport à la pression atmosphérique l'autre à une source de faible vide (dépression d'environ 10 mm de Hg par rapport à la pression atmosphérique).

L'appareil est installé dans une hotte à ventilation forcée et les manipulations s'effectuent derrière un verre au plomb.

Le nombre réduit de manipulations que comporte le marquage et leurs facilités, ainsi que l'emploi de gants de caoutchouc, contribuent à restreindre les dangers d'irradiation externe et de contamination interne.

3 - Mode opératoire

Les robinets R_1 et R_2 étant fermés, introduire :

en B	albumine	50 mg
	eau distillée	3 ml
	tampon glycolle	1,5 ml
en A	NaI solution I	0,1 ml
	Na IO ₃	0,1 ml
	Iode 131	0 ... à 0,8 ml (selon l'activité spécifique désirée)
	eau distillée qsp	1 ml

L'iode est mis en liberté par addition en A de 0,1 ml d'HC 1N.

Ouvrir R_1 : la solution iodurante est aspirée en B ; établir concurremment une légère dépression. La vitesse atteinte par le liquide au cours de son passage dans le tube capillaire assure une homogénéisation presque instantanée des deux solutions.

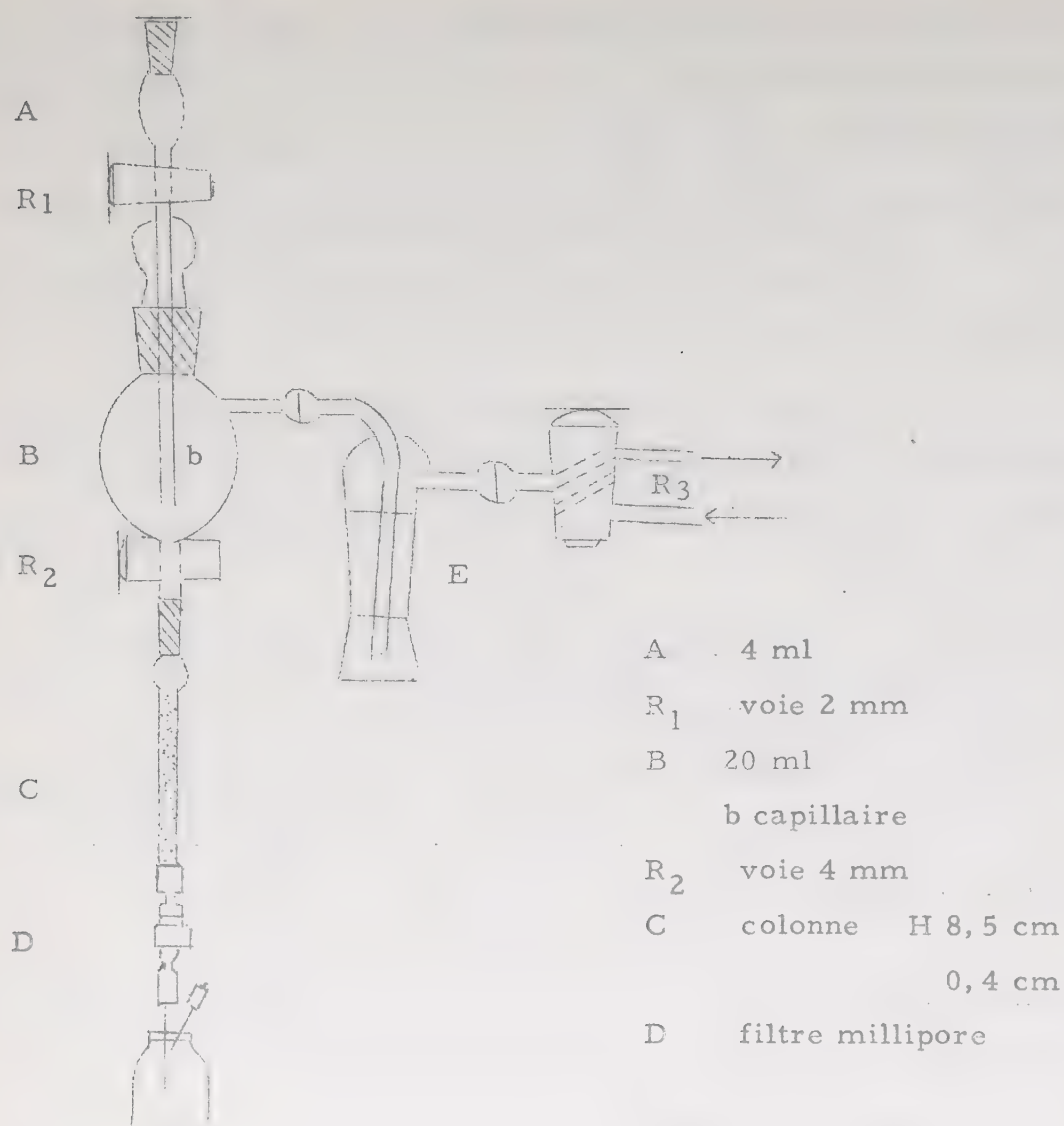


FIGURE I

Appareil utilisé pour le marquage de l'albumine à l'iode 131

Maintenir pendant deux minutes un léger barbotage d'air (en ouvrant légèrement le bouchon de A).

Puis, par l'ampoule A introduire dans le mélange réactionnel 0,5 ml de NaI (solution 2) qui permet un rinçage de A et l'élimination par réaction d'échange des atomes d'iode labiles. Après 15 minutes de contact R_1 et appliquer en B, par l'intermédiaire de R_3 une légère pression d'air. En réglant celle-ci, ainsi que l'ouverture de R_2 , laisser s'écouler la solution d'albumine à travers la colonne C à une vitesse n'excédant pas 0, 0,5 ml (environ 30 gouttes) à la minute.

Recueillir un volume total de 7,5 à 8 ml.

Cette solution prête à l'usage est conservée à + 4°C.

Généralement, nous sommes partis pour le marquage de 60 milligrammes d'albumine (en reprenant le contenu de deux flacons type Penicilline par les 3 ml d'eau distillée de la technique), ce qui donne avec les dilutions successives opérées une solutions d'albumine à 7,5 mg/ml.

Nous avons opéré de manière à avoir une activité spécifique de 0,30 à 0,35 mci par gramme de telle façon à obtenir après sept jours chez les animaux témoins une radioactivité encore mesurable.

Dans cette technique, le taux d'iode libre (risquant de jouer le rôle de contaminant et dont la distribution dans les tissus de l'organisme peut revêtir une allure complètement différente de celle de l'albumine) est infime et, dans les préparations récentes de radio-albumine ne dépasse pas 0,50 pour cent (45). Ce résultat paraît particulièrement favorable : MAC FARLANE (98) par exemple avait obtenu un taux d'iode libre au moins égal à 1,50 pour cent.

CHAPITRE II

II - 1 - IRRADIATION

Espèce animale

Notre étude biologique a été limitée au lapin.

Tout au long de notre expérimentation nous nous sommes efforcés d'utiliser une population animale homogène. C'est dans ce but que les lapins utilisés répondaient aux critères suivants :

Souche : Roux ou fauves de Bourgogne.

Sexe : Mâles uniquement.

Poids : $1,9 \text{ Kg} \pm 0,2$

Les animaux ont été accoutumés au moins une dizaine de jours aux conditions de vie du laboratoire (température $22^{\circ}\text{C} \pm 1$) avant le début de chaque essai.

Source de rayonnement

Les irradiations ont été pratiquées au moyen d'une source de rayons gamma (cobalt 60) en fonctionnement au Centre Lyonnais d'Application Atomiques (Dagneu - Ain)

- Les sources se trouvent dans une piscine remplie d'eau qui fait écran protecteur ; elles sont placées sur un plateau amovible et disposées de telle sorte que l'on obtienne un champ uniforme dans la zone d'irradiation.

- Les lapins sont maintenus immobilisés dans des cages par couples de deux animaux ; cages elles mêmes placées sur un plateau à une distance constante de la source et selon une géométrie calculée à l'avance . Les différentes intensités du rayonnement ont été obtenues en faisant varier les temps d'exposition.

- La dosimétrie a été effectuée par une méthode physique : l'appareil utilisé est le RADIOCAN 575 de la " Victoreen Instrument Company " : il indique par lecture directe l'intensité du rayonnement en Roentgen/minute à l'aide d'un intégrateur à trois décades qui fonctionne en décompteur ; avec la sonde 605 qui l'équipait il permet des mesures de doses comprises entre 10 et 100 r/minute.

Doses administrées

Nous basant sur les données de la littérature que nous avons pu recueillir à ce sujet, nous avons, dans une première série d'expérimentations, pratiqué trois doses d'irradiation 300, 500, et 800 rads. Les résultats plusieurs fois répétés ayant confirmé une réponse encore positive à 300 rads des différents tests que nous avons mis en oeuvre, nous avons fait une nouvelle expérience avec 120 rads.

Au total, outre les lapins témoins (au nombre de douze) nous avons irradié :

- 6 lapins à 120 rads
- 15 lapins à 300 rads
- 12 lapins à 500 rads
- 9 lapins à 800 rads

soit au total 54 lapins, en quatre séries d'expérimentations différentes à plusieurs mois d'intervalle.

Mortalité et caractères généraux.

Trois des lapins irradiés à 800 rads moururent dix jours après irradiation (et nous verrons qu'à leur sujet, les résultats furent difficilement interprétables)

- Aux doses d'irradiation pratiquées, nous n'avons remarqué aucune variation de poids significative chez ces animaux qui se nourrissaient normalement.

- Nous avons remarqué surtout chez les animaux irradiés à 500 rads et à 800 rads des signes d'altération de leurs système pileux, placards diversement colorés, poils restant en touffes dans la main.

- D'autre part, lors des prises de sang quotidiennes que nous avons été amenés à pratiquer, des hémorragies plus ou moins importantes ont été notées, et il était parfois difficile d'arrêter le saignement (lapins irradiés à 500 et 800 rads).

II - 2 - INJECTION DE L'ALBUMINE. ETUDE DE LA DEMI-VIE

Protocole expérimental

Marquée à l'Iode 131 dans les conditions opératoires décrites plus haut, la sérum albumine du lapin est injectée dans l'une veine marginale de l'oreille à raison d'environ deux à trois millilitres de la solution d'albumine récemment préparée (le jour même ou la veille au plus tard).

Cette injection s'accompagne évidemment de toutes les précautions nécessaires à prendre dans la manipulation de produits radioactifs.

- Après 10 minutes, un premier prélèvement de sang est effectué pour déterminer le 100 p. 100 de radioactivité (activité initiale au temps $T = 0$).

- Puis la radioactivité du sang total est déterminée quotidiennement à l'aide d'un scintillateur à cristal creux type " Puits " SAPHYMO-TRACER-LAB sur une prise de sang prélevée à la veine marginale de l'oreille de l'animal et recueillie pondéralement dans un tube à hémolyse préalablement taré.

- Nous nous sommes toujours efforcés d'obtenir une quantité de sang à peu près identique dans chaque échantillon prélevé, de façon à ne pas introduire de cause d'erreur inhérente à la géométrie de l'appareil de mesure.

- Nous verrons dans la partie consacrée aux résultats de quelle manière nous avons tracé les courbes de radioactivité en fonction du temps.

- Notons tout de suite que les valeurs trouvées, rapportées à l'activité initiale au temps $T = 0$, ont été exprimées en nombre de coups par minute et par gramme de sang total.

- Il a évidemment été tenu compte de la décroissance radioactive propre à l'Iode 131 ($T = 8,05$ jours).

- D'autre part, nous avons non seulement fait varier la dose d'irradiation, mais aussi le temps qui sépare l'irradiation de l'injection de sérum albumine radioiodée chez le lapin (l'injection d'albumine ayant toujours lieu postérieurement à l'irradiation).

Ainsi des essais ont été effectués en injectant la sérum albumine :

- immédiatement après irradiation,
- 3 jours après irradiation,
- 9 jours après irradiation,
- 16 jours après irradiation.

afin de voir au bout de quel laps de temps l'action des rayons gamma devenait décelable par les critères biologiques que nous avons retenus et à quel moment l'action était maximale.

II - 3 - TESTS UTILISES POUR EVALUER L'ATTEINTE HEPATIQUE

Nous avons vu quelle était la part de l'atteinte hépatique chez un animal soumis à une irradiation corporelle totale. Pour objectiver un tel effet, nous avons choisi d'effectuer sur le sérum quelques tests biologiques classiquement préconisés lors d'atteinte hépatiques diverses, notamment la détermination des taux sériques de transaminases glutamique oxalacétique et glutamique pyruvique, de lacticodehydrogénase et l'évaluation des différentes fractions protéiques par électrophorèse sur papier.

II - 3 - 1 - TRANSAMINASES

L'étude des transaminases sériques ° glutamiques oxalacétique (SGOT) et glutamique pyruvique (SGPT) sous irradiation a déjà fait l'objet de quelques travaux. Mais ce ne sont pas les seuls enzymes sériques, erythrocytaires ou provenant d'autres sources qui sont signalés dans la littérature comme présentant des variations parfois considérables lorsque l'organisme est soumis à une irradiation corporelle totale.

Selon KURODA et Coll (88 bis) on observe chez des lapins soumis à 500 rads, une phosphatase alcaline notablement diminuée vingt quatre heures après irradiation, puis augmentant graduellement jusqu'à un taux normal ; une GOT et une GPT augmentant pendant douze heures puis diminuant les jours suivants ; une

° Chez l'homme, les taux élevés de SGPT sont considérés comme plus spécifiques qu'une augmentation de la SGOT pour juger d'un dysfonctionnement hépatique. Il semble que chez les animaux tels que le rat et la souris, les variations des SGOT soient en général plus importantes au cours des hépatites toxiques ou nutritionnelles. Depuis plusieurs années, les variations des SGCT sont les seules déterminées au laboratoire de pharmacodynamie pour suivre l'évolution d'une atteinte hépatique toxique aiguë chez les petits animaux de laboratoire (39). Néanmoins, nous avons effectué les deux déterminations au cours de notre travail sur le lapin, l'évolution des deux enzymes s'étant avérée pratiquement identique et parallèle sous irradiation.

glucose - 6 - phosphate deshydrogénase érythrocytaire très diminuée.

BRAUN et Coll (23) signalent chez des souris soumises à une irradiation totale à la dose de 450 rads, une augmentation de la SCOT dans tous les organes, et une augmentation de la SGPT seulement dans les homogénéisats de foie.

Chez des chiens irradiés à 300 rads il a été remarqué d'autre part une augmentation des deux transaminases (46) , la SCOT augmentant proportionnellement aux doses (9).

Transaminase glutamique oxalacétique

Le mode d'action de cette transaminase se schématise par la réaction suivante :



L'activité de cet enzyme peut être appréciée par quatre procédés : chromatographie, spectrophotométrie, colorimétrie et manométrie. Toutes ces méthodes reposent sur le principe suivant : lorsqu'on met en présence une source d'énergie, un substrat d'acide aspartique et d'acide alpha céto-glutarique dans des conditions déterminées (concentrations respectives, température, pH) les quantités d'acide glutamique et d'acide oxal-acétique produits sont proportionnelles à l'activité enzymatique.

Dans la technique de dosage utilisée (colorimétrie), l'acide oxalacétique formé se transforme en acide pyruvique + anhydride carbonique et l'on peut admettre que la quantité d'acide pyruvique formé est proportionnelle à celle d'acide oxalacétique qui dépend elle-même de la quantité de GOT.

REITMAN et FRANCKEL ont décrit une méthode simple où la solution colorée finale est un mélange de dinitrophénylhydrazones des acides cétoniques présents, ceux du substrat et ceux produits par la réaction enzymatique.

La longueur de 505 m μ est celle où la différence de densité optique entre les phénylhydrazones des acides cétoniques formés dans les conditions de l'expérience et celle des acides cétoniques du substrat est maximale.

La coloration obtenue est comparée à celles données par des solutions titrées d'acide pyruvique (127). Les hydrazones en présence de soude donnent ensuite lieu à l'apparition d'une coloration brune colorimétrable.

Transaminase glutamique pyruvique

Cette transaminase agit de la manière suivante :



Ici, l'acide pyruvique se forme directement au cours de la réaction, la colorimétrie étant la même que pour la SGOT.

Détermination simultanée de la SGOT et de la SGPT

Réactifs

- Sérums à tester ; ils ne doivent pas présenter d'hémolyse (la SGOT^e existe en effet en plus grande quantité dans les globules rouges que dans le sérum).

Ils peuvent être conservés 24 h. à la température du laboratoire et 4 à 5 jours à + 4°.

R 1 - Substrat SGOT : Solution d'acide alphacétoglutarique à pH 7,4 et d'acide aspartique.

R 2 - Substrat SGPT : Solution d'alanine et d'acide alphacétoglutarique à pH 7,4.

R 3 - Solution de 2, 4 dinitrophenylhydrazine.

R 4 - Standard d'étalonnage servant à établir la courbe d'étalonnage.

C'est une solution de pyruvate de sodium.

R 5 - NaOH 0, 4 N environ : dissoudre 16 g de soude caustique en pastilles dans un litre d'eau distillée.

- Les réactifs doivent être conservés à $+4^\circ$ pour les n° 1 - 2 - 3 - 4.

Le réactif n°3 doit être conservé à l'abri de la lumière.

Mode opératoire

1) Courbe d'étalonnage

Tubes n°	Eau D	Rf. 1	Rf. 4	Unités SGOT	Unités SGPT
1	0, 2	0	0	0	0
2	0, 2	0, 9	0, 1	22	25
3	0, 2	0, 8	0, 2	55	50
4	0, 2	0, 7	0, 3	95	83
5	0, 2	0, 6	0, 4	150	126
6	0, 2	0, 5	0, 5	215	-

2) Ajouter dans chaque tube 1 ml de R 3. Laisser 20 minutes à la température du laboratoire.

3) Ajouter 10 ml de NaOH 0, 4 N. Mélanger. Photométrer 5 minutes après (photolorimètre Spectronic 20 BAUSCH et LOMB).

4) Tracer la courbe d'étalonnage.

SGOT Exécution de la réaction

Ajouter à 1 ml de R_1 (porté préalablement 5 minutes au bain marie à 37°C)

0, 2 ml de sérum à tester.

SGPT

Ajouter à 1 ml de R_2 (porté préalablement 5 minutes au bain marie à 37°C).

0, 2 ml de sérum à tester.

- mélanger. Porter 30 mn à 37°
- faire concorder les deux réactions.
- au bout du temps indiqué ajouter dans les deux tubes (SGPT et SCOT) 1 ml de réactif n° 3 (DNPH). Mélanger. Laisser 20 minutes à la température du laboratoire.
- mettre dans tous les tubes 10 ml de NaOH 0,4 N. Attendre au moins 5 mn.
- colorimétrer à 505 m μ .
- Se rapporter à la courbe d'étalonnage pour avoir la valeur en unités REITMAN-FRANKEL.

II - 3 - 2 - LACTICODESHYDROGENASE SERIQUE

Cet enzyme réduit les alpha céto-acides, en particulier l'acide pyruvique et les alpha - gamma dicétoacides en présence de DPN-H.

Le dosage est basé sur la méthode de CABAUD et WROBLEWSKI (26) et le principe en est le suivant :

L'acide pyruvique en présence de dihydrodiphosphopyridinenucléotide réduit est transformé sous l'influence de la deshydrogénase lactique en acide lactique :



La quantité d'acide pyruvique transformé en acide lactique est directement proportionnelle à l'activité enzymatique.

Dans la méthode colorimétrique de CABAUD et WROBLEWSKI, le pyruvate non transformé est dosé par la dinitrophénylhydrazine et le nombre d'unités de LDH obtenu est comparable à celui de la méthode de WROBLEWSKI et LADUE travaillant en ultra-violet.

° Cet enzyme a été signalé comme augmentant dans le sérum des animaux irradiés.

Réactifs

- Sérums à tester non hémolysés

n° 1 (R₁) - Substrat pyruvate : solution titrée de pyruvate de sodium à pH 9,5.

n° 2 (R₂) - Réactif colorimétrique à la DNPH.

n° 3 (R₃) - Flacons contenant une quantité pesée à l'avance (1,0 mg) de diphosphopyridinenucléotideréduit.

Les déterminations sont faites directement dans ces flacons.

n° 4 (R₄) - Solution de soude environ 0,4 N.

Mode opératoire1) courbe d'étalonnage

Tubes	R ₁	Eau D	Unités LDH par ml de sérum
1	1	0,1	0
2	0,8	0,3	280
3	0,6	0,5	640
4	0,4	0,7	1040
5	0,2	0,9	1530
6	0,1	1	2000

Ajouter dans chaque tube 1 ml de réactif n° 2 . Mélanger. Abandonner 20 mn. à la température du laboratoire.

Ajouter 10 ml de NaOH 0,4 N . Mélanger. Abandonner 30 mn à la température du laboratoire.

Colorimétriser à 505 mμ .

2) Exécution de la réaction

- Diluer 1 volume de sérum avec 5 volumes d'eau distillée.
- A 1 ml de substrat au pyruvate mis dans un tube de réactif

n° 3 (préalablement chauffé 5 mn à 37°).

Ajouter 0,1 ml de sérum dilué. Mélanger.

- Laisser 30 mn au bain marie à 37°.
- Ajouter 1 ml de R_2 . Laisser 20 minutes à la température du laboratoire.

- Ajouter 10 ml de $NaOH$ 0,4 N. Laisser 30 minutes à la température du laboratoire.

- Colorimétrer à 550 m μ (photolorimètre Spectronic 20 BAUSCH et LOMB).

- A partir du pourcentage de transmission obtenu, se rapporter à la courbe d'étalonnage pour obtenir le résultat en unités de LDH par millilitres de sérum.

Toutes les déterminations enzymatiques ont été faites avant irradiation sur chaque lapin (qui est lui-même son propre témoin) et suivies tous les deux à trois jours jusqu'au 40 ème jour de l'essai.

Notonsque nous avons relevé dans la littérature d'autres tests hépatiques perturbés sous irradiation ; ainsi KREBS et BAUER (87) rapportent par exemple, une diminution de la sécrétion de la bromosulfonephtaléine chez les rats irradiés, diminution qui serait due à une stase biliaire temporaire.

II - 3 - 3 - ELECTROPHORESE SUR PAPIER DES PROTEINES SERIQUES

Le choix de l'électrophorèse nous a été dicté par le fait que nous avons relevé dans la littérature de très nombreuses communications faisant état d'un déséquilibre protéique important dans le sérum des sujets (animaux ou humains) soumis à une irradiation X ou gamma. Nous avons vu en effet dans le chapitre des généralités consacré à l'action des radiations sur le métabolisme protéique qu'il a été constaté chez toutes les espèces animales étudiées, une chute nette de la sérum-

albumine avec augmentation puis diminution des gamma-globulines et une variation inégale du taux des alpha et bêta globulines.

La technique utilisée est celle de l'électrophorèse sur papier des protéines sériques (111) décrites plus haut (Chapitre I - I₁).

Les évaluations quantitatives ont été pratiquées à l'aide du CHROMSCAN JOYCE ET LOEBL, densitomètre intégrateur à double faisceau.

Les déterminations électrophorétiques ont été faites sur chaque lapin avant irradiation (ou intoxication au tétrachlorure de carbone) puis tous les quatre à cinq jours jusqu'au 40 ème jour qui suit l'irradiation.

II - 4 - INTOXICATION AU TETRACHLORURE DE CARBONE

Nous avons choisi comme agent hépatotoxique le tétrachlorure de carbone, car il est classique de retrouver avec ce solvant chloré, et quelle que soit la voie d'introduction, une atteinte hépatique objectivée par une infiltration graisseuse avec nécrose centrolobulaire maximale après un à deux jours avec retour à la normale après 4 à 7 jours.

Dans son travail COQUET (39) a fait ressortir que lors de l'intoxication de petits animaux de laboratoire (rats ou souris) la transaminémie est fortement augmentée ainsi que la LDH sérique dès la 15 ème heure qui suit l'administration de l'agent hépatotoxique. Celui-ci a été administré par voie sous-cutanée (plan sous-cutané de la paroi abdominale) à raison de 500 mg de tétrachlorure de carbone par kg d'animal (solution à 50 p. 100 de tétrachlorure de carbone dans de l'huile d'olive).

Pour comparer valablement les atteintes hépatiques provoquées par l'intoxication au tétrachlorure de carbone et l'irradiation corporelle totale des animaux, nous avons déterminé chez ces animaux ainsi intoxiqués :

- immédiatement et au 9 ème jour qui suit l'intoxication ou l'irradiation,
- le catabolisme de la sérum-albumine autologue radioiodée

- depuis le début de l'essai jusqu'au 40 ème jour.
- . les variations des transaminases GC et GP
- . les variations de la lacticodeshydrogénase
- . les taux des différentes fractions protéiques sériques par électrophorèse sur papier.

DEUXIEME PARTIE : RESULTATS

CHAPITRE I

ETUDE DE LA DEMI-VIE DE LA SERUM-ALBUMINE AUTOLOGUE RADIOIODEE CHEZ LE LAPIN

I - 1 - Lapins témoins

- Les chiffres que nous rapportons, et les courbes que nous reproduisons plus loin sont une moyenne de la totalité des déterminations effectuées sur les lapins témoins (12 animaux au total) répartis en quatre séries d'expériences à plusieurs mois d'intervalle. Les résultats obtenus sont suffisamment constants pour nous permettre d'opérer ainsi.

La demi-vie de l'albumine autologue radioiodée est théoriquement le temps au bout duquel 50 p. cent de l'albumine sont catabolisés, ce qui est objectivé dans nos expériences par le moment où 50p. cent de la radioactivité initiale (mesurée au moment de l'injection de l'albumine radioiodée) ont disparu. C'est en effet un chiffre moyen indépendant de la quantité de radio-activité introduite chez l'animal.

- Nous avons évalué les demi-vies d'une part graphiquement d'après les courbes de décroissance radioactive en fonction du temps , et d'autre part par un calcul mathématique commun aux déterminations biologiques des demi-vies à l'aide des isotopes radioactifs (90).

a) Technique graphique

Les courbes que nous avons obtenues (figure 2) représentent la radioactivité de l'iode 131 (exprimée en coups par minute) par milligramme de sang total et ramenée en pourcentage : le cent pour cent étant pris au temps $T = 0$

sur un échantillon de sang prélevé dix minutes après injection intraveineuse d'albumine marquée.

L'échelle semi-logarithmique (sur les ordonnées) conduit à un étalement plus important de la courbe ce qui permet une meilleure lecture aux faibles activités.

Il nous est apparu qu'en raison de la décroissance radioactive extrêmement importante pendant les premières 24 heures qui suivent l'injection d'albumine radioiodée (supérieure dans la plupart des cas à 50 p. Cent) il était plus convenable de calculer la demi-vie de l'albumine sur les chiffres correspondant à une radioactivité représentant 25 % et 12,5 % de la radioactivité initiale (soit le temps de deux et quatre demi-vies).

- L'examen des courbes de décroissance radioactive montre que chez ces animaux, toute trace de radioactivité (mesurable dans nos conditions expérimentales) disparaît au bout de sept jours.

- Remarquons également qu'elles se laissent résoudre en deux composantes :

- . la première, représentant une évolution beaucoup plus rapide, correspond vraisemblablement à la distribution de l'albumine marquée dans la totalité du " pool " intra et extravasculaire de l'albumine échangeable.
- . la deuxième résulte de la dilution progressive de l'albumine marquée par apport continu de la protéine nouvellement synthétisée.

RESULTATS

A partir des différents chiffres obtenus pour les témoins, nous avons obtenu par cette méthode une demi-vie de la sérum albumine autologue radioiodée chez le lapin normal de

$$27,6 \pm 2,7 \text{ HEURES}$$

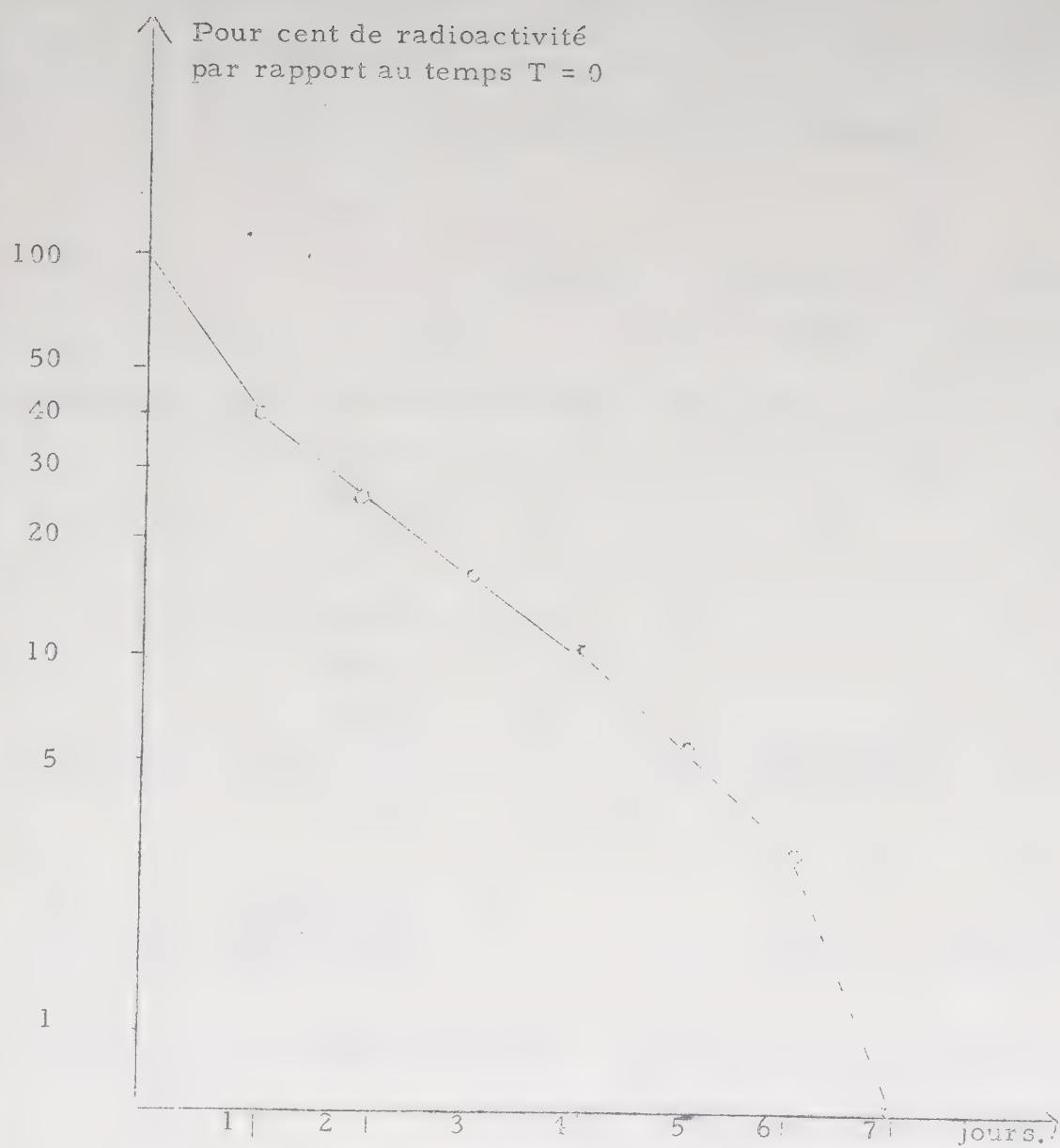


FIGURE 2

Dégradation de l'albumine autologue radioiodée chez les lapins témoins.

b) Calcul de la demi-vie expérimentale

Cette détermination s'effectue sans tenir compte de l'activité initiale de la radioactivité et est réalisée de la manière suivante, selon le mode de calcul proposé par LAMOTTE (90)

Exemple de calcul d'une demi-vie :

A	t	y	y x t	t ²
Activité en c/mn par mg de sang total	Temps en jours	= log a		
91	1	1,95904	1,95904	1
63	2	1,79934	3,59868	4
47	3	1,67210	5,06130	9
40	4	1,60206	6,40824	16
14	5	1,14613	5,73065	25
3	6	0,47712	2,86272	36
Total	21	8,65579	25,62063	91

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{\text{nbr jours}} = 1,44263$$

$$\bar{t} = \frac{\text{temps total}}{\text{nbr de jours}} = 3,5$$

$$\text{d'où } y \times t = 5,049205 \quad \text{et} \quad 6yt = 30,29523$$

$$\text{covariance} = \sum yt - 6yt = 4,67460$$

$$\text{variance} = \sum t^2 - \bar{t} \sum t = 91 - 73,5 = 17,5$$

$$\alpha = \frac{\text{covariance}}{\text{variance}} = -0,26713$$

$$\text{le } t_{1/2} \text{ étant égal à } \frac{\log 2}{0,26712} = \frac{0,3103}{0,26712} = 1,16 \text{ jours}$$

soit 26,84 heures.

Dans ces conditions les résultats trouvés s'avèrent très voisins des précédents.

I - 2 - Lapins irradiés et intoxiqués au tétrachlorure de carbone.

Les séries expérimentales ont été réparties comme suit (voir tableau II).

Pour chaque essai des lapins témoins (à raison de 3 ou 4 animaux par lot), non irradiés ou non intoxiqués, ont reçu de l'albumine radioiodée autologue dans les mêmes conditions que les lapins servant à l'essai.

TABLEAU II

EXPERIENCE	ALBUMINE AUTOLOGUE RADIOIODEE INJECTEE	DOSES D'IRRADIATION EN ROENTGENS	Figure
A	immédiatement après irrad.	300 - 500 - 800	3
B	3 jours après irrad.	300 - 500 - 800	4
C et D	9 jours après irrad.	300 - 500 - 800 120 - 300	5
E	16 jours après irrad.	120 - 300	6
F et G	immédiatement après intox. 9 jours après intox.	INTOXICATION au $C Cl_4$	7
		sous cutanée 500 mg/kg animal	

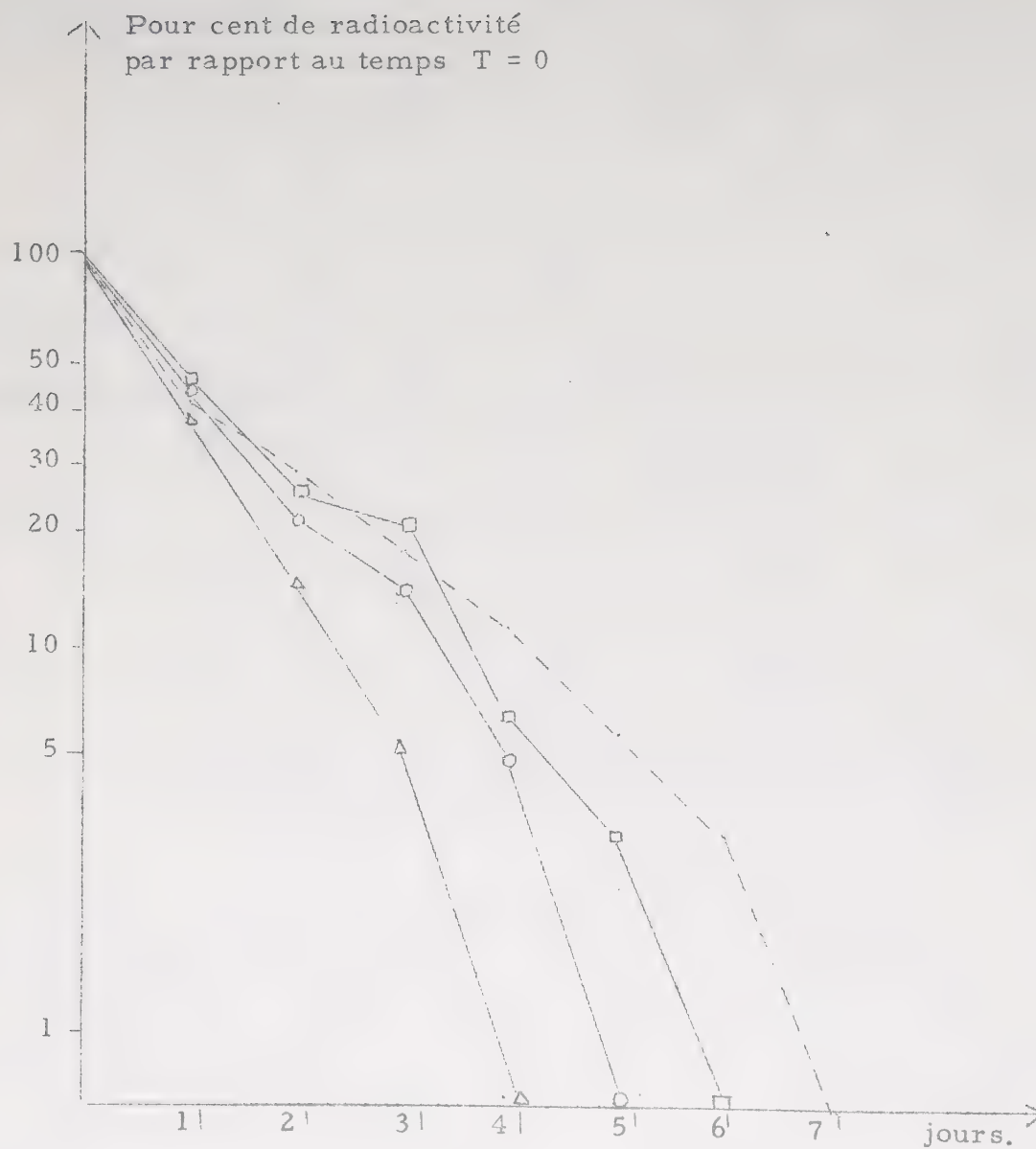


FIGURE 3

Dégradation de l'albumine autologue radioiodée dans l'expérience
A : immédiatement après irradiation.

- lapins ayant reçu □ 300 r
○ 500 r
△ 800 r
-- Témoins.

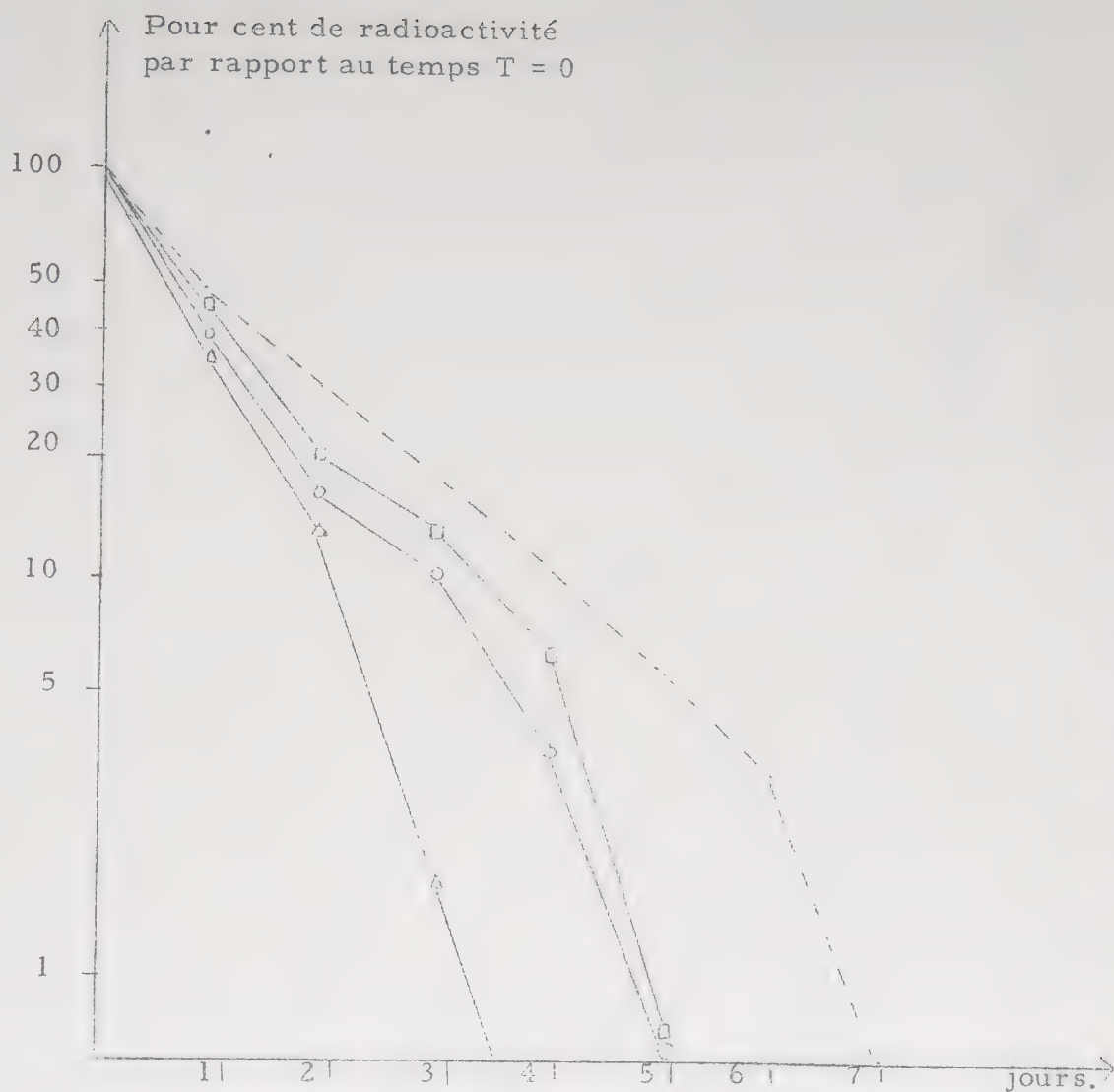


FIGURE 4

Dégradation de l'albumine autologue radioiodée dans l'expérience
B : 3 jours après irradiation .

- lapins ayant reçu □ 300r
○ 500r
△ 800r
-- lapins témoins.

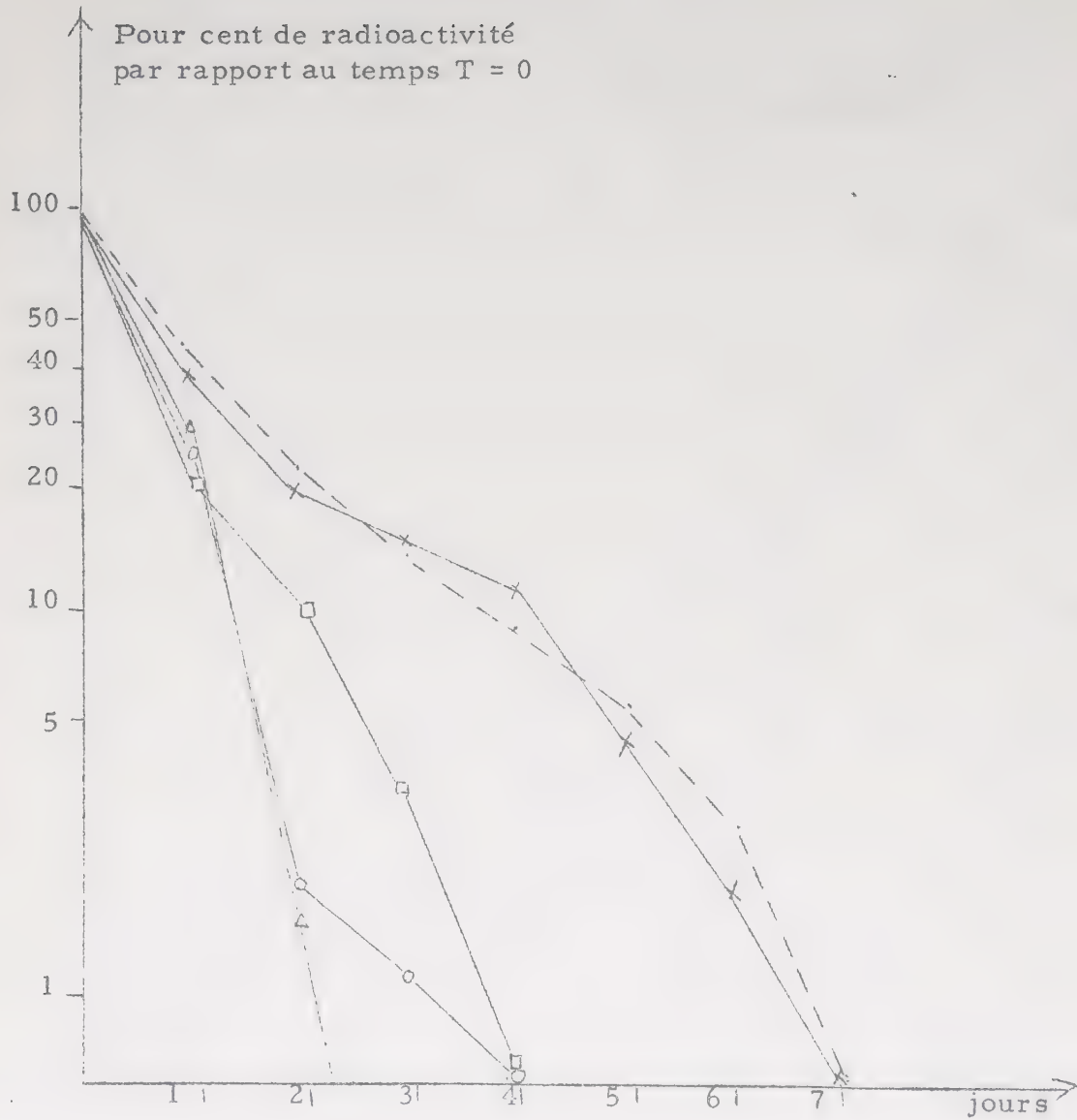


FIGURE 5

Dégradation de l'albumine autologue radioiodée dans les expériences C et D : 9 jours après irradiation.

- lapins ayant reçu x 120 r
 □ 300 r
 ○ 500 r
 △ 800 r
 — témoins.

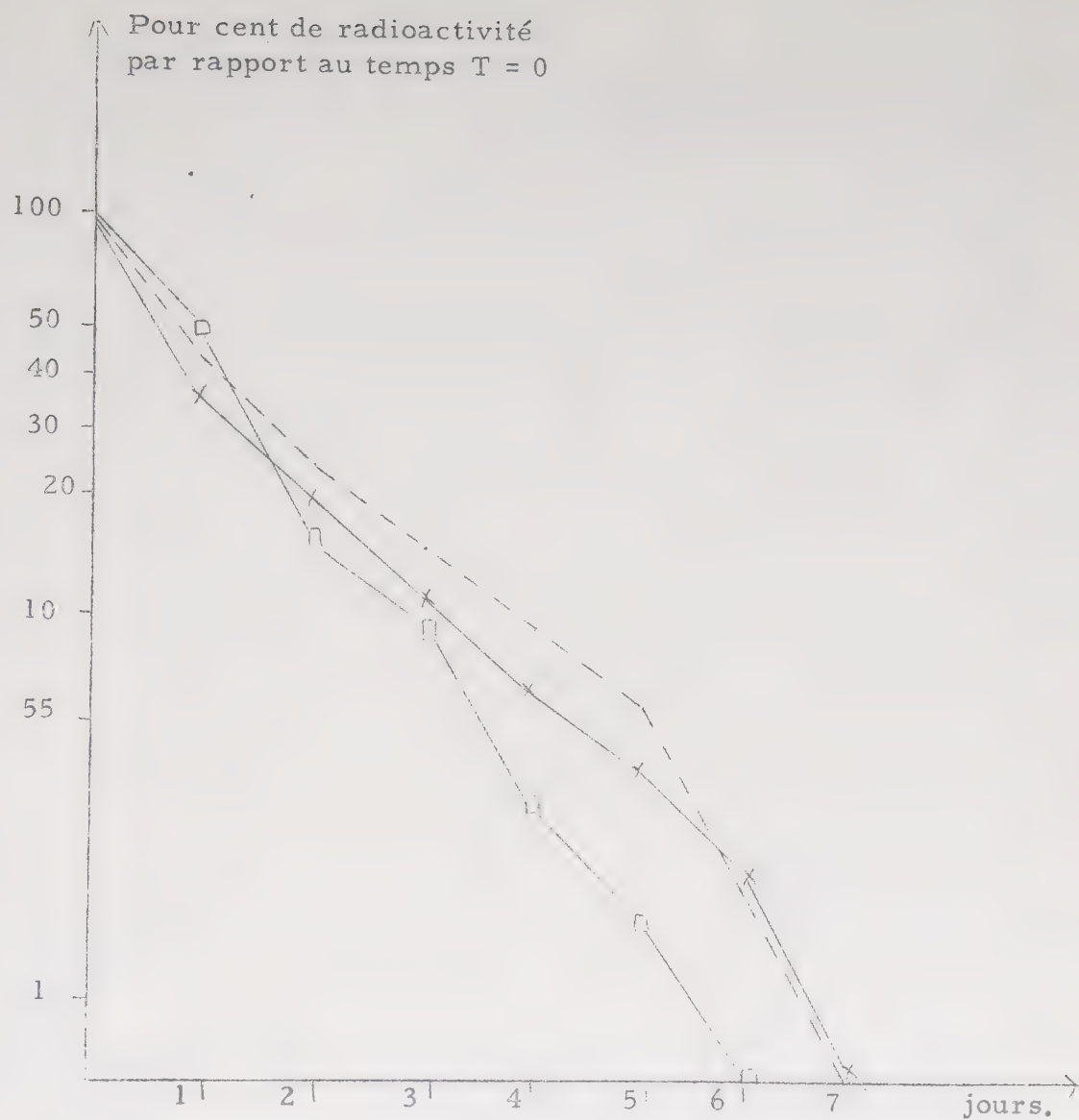


FIGURE 6

Dégradation de l'albumine autologue radioiodée dans l'expérience
E : 16 jours après irradiation.

- lapins ayant reçu X 120 r
□ 300 r
-- témoins

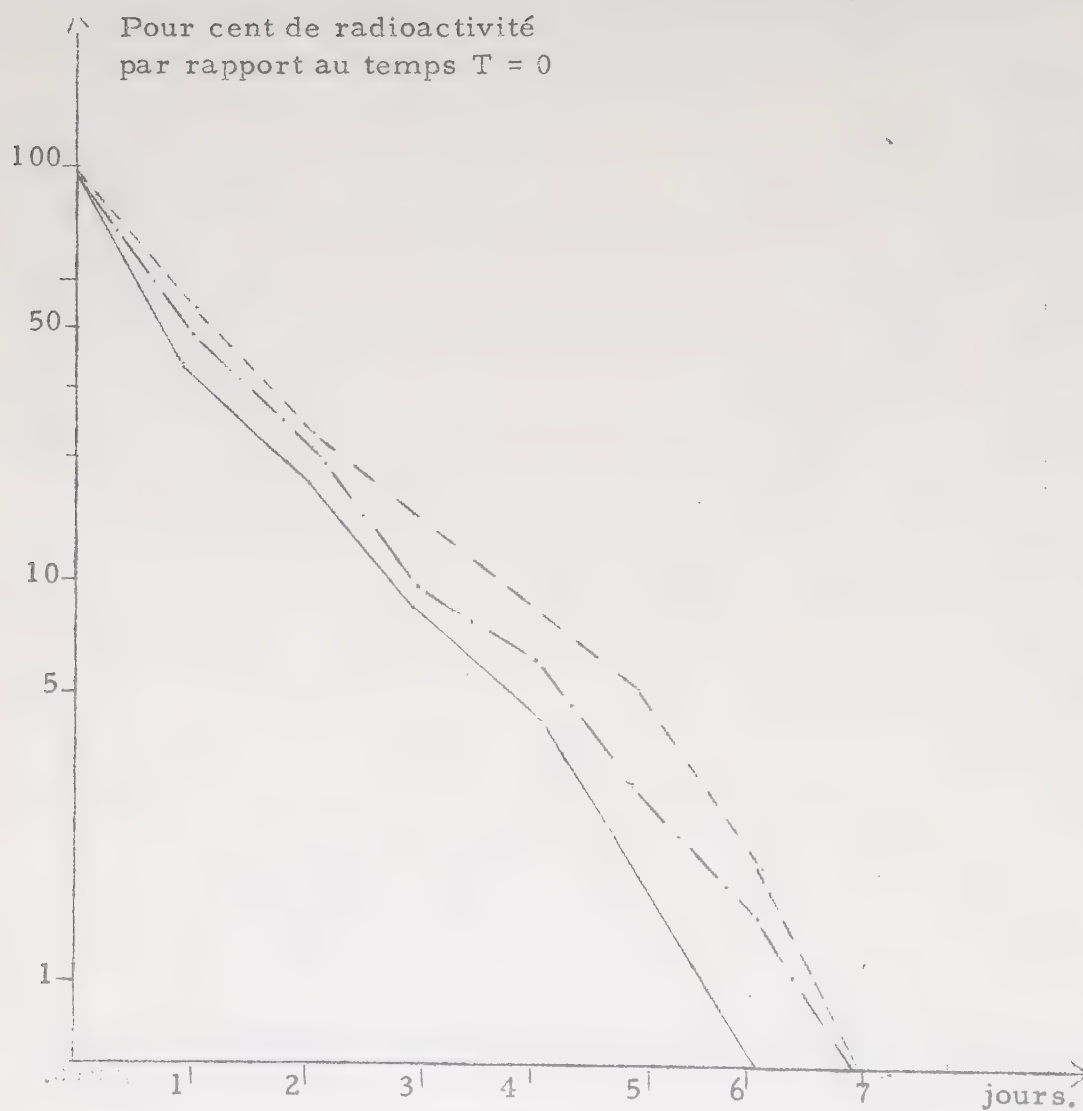


FIGURE 7

Dégradation de l'albumine autologue radioiodée dans les expériences
F : immédiatement après intoxication et G : 9 jours après intoxication.

- lapins ayant reçu -- témoins

— de l'albumine radioiodée immédiatement après CCl_4

— de l'albumine radioiodée 9 j.
après CCl_4

Les résultats trouvés pour les demi-vies de la sérum-albumine autologue radioiodée chez le lapin irradié ou soumis à l'action toxique du tétrachlorure de carbone sont rapportés dans le tableau III. Nous avons indiqué les valeurs moyennes exprimées en heures.

TABLEAU III

Valeur des demi-vies de la sérum albumine autologue radioiodée chez le lapin irradié ou intoxiqué au tétrachlorure de carbone

témoins	27 $\pm$ 2,7			
Lapins ayant reçu l'albumine radioiodée Doses d'irrad.	immédiatement après irradiation	3 jours après irradiation	9 jours après irradiation	16 jours après irradiation
120 r			24 $\pm$ 2,2	22,1 $\pm$ 1,9
300 r	28,1 $\pm$ 3,4	22,7 $\pm$ 1,7	11,2 $\pm$ 2,4 ^{C'} 14,4 $\pm$ 1,3 ^{D'}	20,2 $\pm$ 2,3
500 r	19,6 $\pm$ 2,1	20 $\pm$ 2,2	15 $\pm$ 1,3	
800 r	16,9	15,4 $\pm$ 1,9	difficile à déterminer ^{oo}	
Lapins intoxiqués au tétrachlorure de carbone Dose = 500 mg/kg	21,3 $\pm$ 1,1		22,6 $\pm$ 1,4	

Les résultats rapportés dans ce tableau portent sur une expérimentation réalisée en plusieurs fois, chaque essai portant sur 3 ou 4 animaux, ce qui explique sans doute les écarts observés.

* Dans cette expérience, deux lapins irradiés à cette dose sont morts entre le premier et le deuxième jour qui ont suivi l'injection d'albumine marquée. Dès les premiers jours de cet essai d'ailleurs, l'état général des animaux a été nettement déficient.

L'examen des résultats obtenus et des courbes de décroissance

radioactive (figure 8) appelle les remarques suivantes :

- 1 - La demi-vie de la sérum albumine autologue radioiodée diminue chez le lapin irradié dans la totalité des cas.

Il semble qu'il y ait une certaine proportionalité entre la dose d'irradiation et la chute de cette demi-vie, et que ce soit à partir de 300 rads qu'un tel effet soit significatif, c'est-à-dire à une dose nettement inférieure à la DL 50 au soixantième jour.

- 2 - La demi-vie de l'albumine diminue quand augmente l'intervalle de temps qui s'écoule entre l'irradiation et l'injection d'albumine radioiodée.

. Il faut, à une dose de 300 rads, au moins trois jours pour que l'irradiation ait un effet sur le catabolisme de l'albumine :

à cette dose, en effet, lorsque l'albumine est injectée immédiatement après irradiation, sa courbe de décroissance radioactive est pratiquement superposable à celle des lapins témoins et sa demi-vie identique.

. A partir de 500 rads, les chiffres de demi-vies sont déjà très abaissés immédiatement après irradiation et les courbes montrent une radioactivité qui devient négligeable dès le quatrième ou le cinquième jour de l'essai.

. Quelle que soit la dose, l'effet maximal s'observe au bout de 9 jours ; il peut alors représenter une diminution de la demi-vie de 57 % dans un cas extrême (expérience C : irradiation de 5 animaux à 300 rads)

. A 800 rads si immédiatement après irradiation, l'on a pu observer une demi-vie déjà très abaissée, (16,9 heures immédiatement après irradiation et 15,4 heures 3 jours après) il nous a été difficile de déterminer à quel jour de l'essai les effets de l'irradiation étaient maximaux en raison de l'état général des animaux irradiés à une telle dose et d'une mortalité très importante dès le 9 ème jour.

Néanmoins c'est avec une telle dose que la demi-vie de la sérum-albumine est d'emblée la plus perturbée, et il semble que l'on puisse conclure que le catabolisme est d'autant plus intense que la dose de radiation gamma administrée est plus forte.

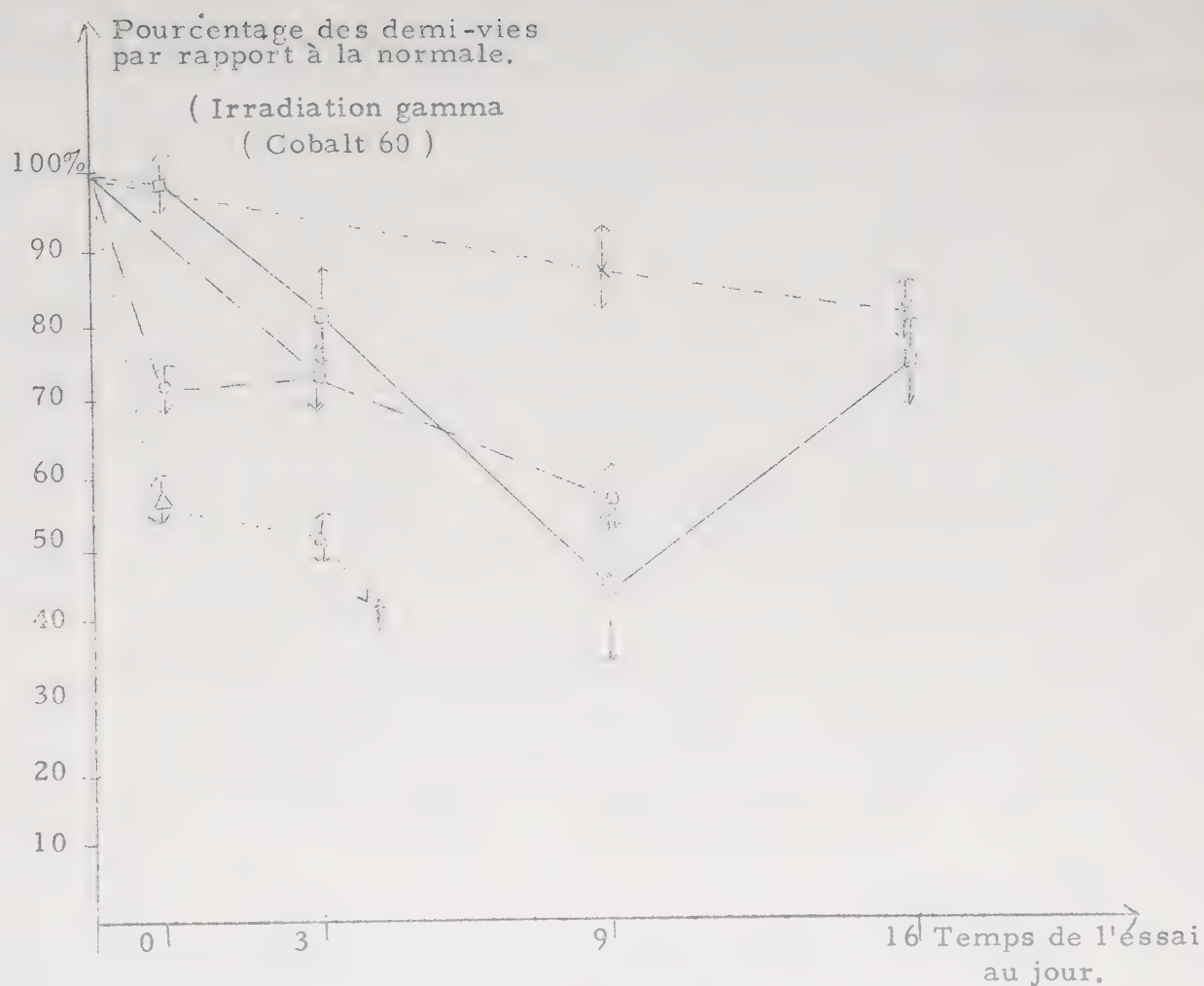


FIGURE 8

Dégradation de l'albumine autologue radioiodée en fonction de la dose d'irradiation et du temps qui s'écoule entre l'irradiation et l'injection de l'albumine.

- lapins ayant reçu

120 r
300 r
500 r
800 r

- 3 - En ce qui concerne les intoxications au tétrachlorure de carbone, si la demi-vie de la sérum-albumine est légèrement abaissée (21,3 heures) lorsqu'on injecte l'albumine immédiatement après l'agent hépatotoxique, les variations observées paraissent peu significatives en comparaison des écarts beaucoup plus importants enregistrés chez les lapins irradiés. D'autre part ayant pratiqué une mesure de la demi - vie neuf jours après intoxication (en se plaçant dans les conditions où nous avons obtenu les effets optimaux avec les radiations gamma) nous avons enregistré une demi-vie de $22,6 \pm 1,4$ donc sensiblement identique à celle obtenue immédiatement après intoxication. Le facteur temps ne semble donc pas jouer dans ce cas comme lors d'une irradiation gamma.

CHAPITRE II

ETUDE DES ENZYMES SÉRIQUES (CCT, CPT, LDH) CHEZ LE LAPIN

II - 1 - Lapins irradiés

Utilisant les méthodes décrites plus haut (1 ère partie chapitre II-3) nous avons trouvé les valeurs normales suivantes pour ces enzymes.

SGPT de 50 à 75 unités par ml de sérum.

SGOT de 20 à 35 unités par ml de sérum.

LDH de 400 à 700 unités par ml de sérum.

- Les taux de ces enzymes ont été étudiés avant irradiation pour chaque animal (chaque lapin étant à lui-même son propre témoin) et pendant les quarante jours suivant une irradiation aux doses de 120 - 300 -500 et 800 rads).

- Les valeurs reproduites dans le tableau IV et sur les courbes 9 - 10 - représentent une moyenne de détermination effectuée sur :

- 6 animaux irradiés à 120 rads
- 15 animaux irradiés à 300 rads
- 12 animaux irradiés à 500 rads
- 9 animaux irradiés à 800 rads (puis 6 lapins à partir du 10 ème jour de l'essai.

II - 2 - Lapins intoxiqués au tétrachlorure de carbone

Les résultats reproduits dans le tableau V sont une moyenne de ceux obtenus avec 6 lapins intoxiqués.

Nous voyons que chez les lapins, lors de l'irradiation corporelle totale, l'augmentation des enzymes sériques est progressive jusqu'au vingtième jour environ, et est proportionnelle à la quantité de rayonnement gamma administrée à

l'animal. Notons qu'à la dose de 120 rads, les modifications dans le sens d'une augmentation sont minimales et ne peuvent être considérées comme significatives.

D'autre part, les variations de taux des enzymes étudiés n'ont aucune commune mesure avec celles qui suivent une intoxication au tétrachlorure de carbone (tableau V). A la lumière de ces résultats, il nous a paru intéressant de calculer les pourcentages d'augmentation de ces enzymes en notant également le jour où leur libération est maximale, ainsi que la date de retour à la normale (tableau VI)

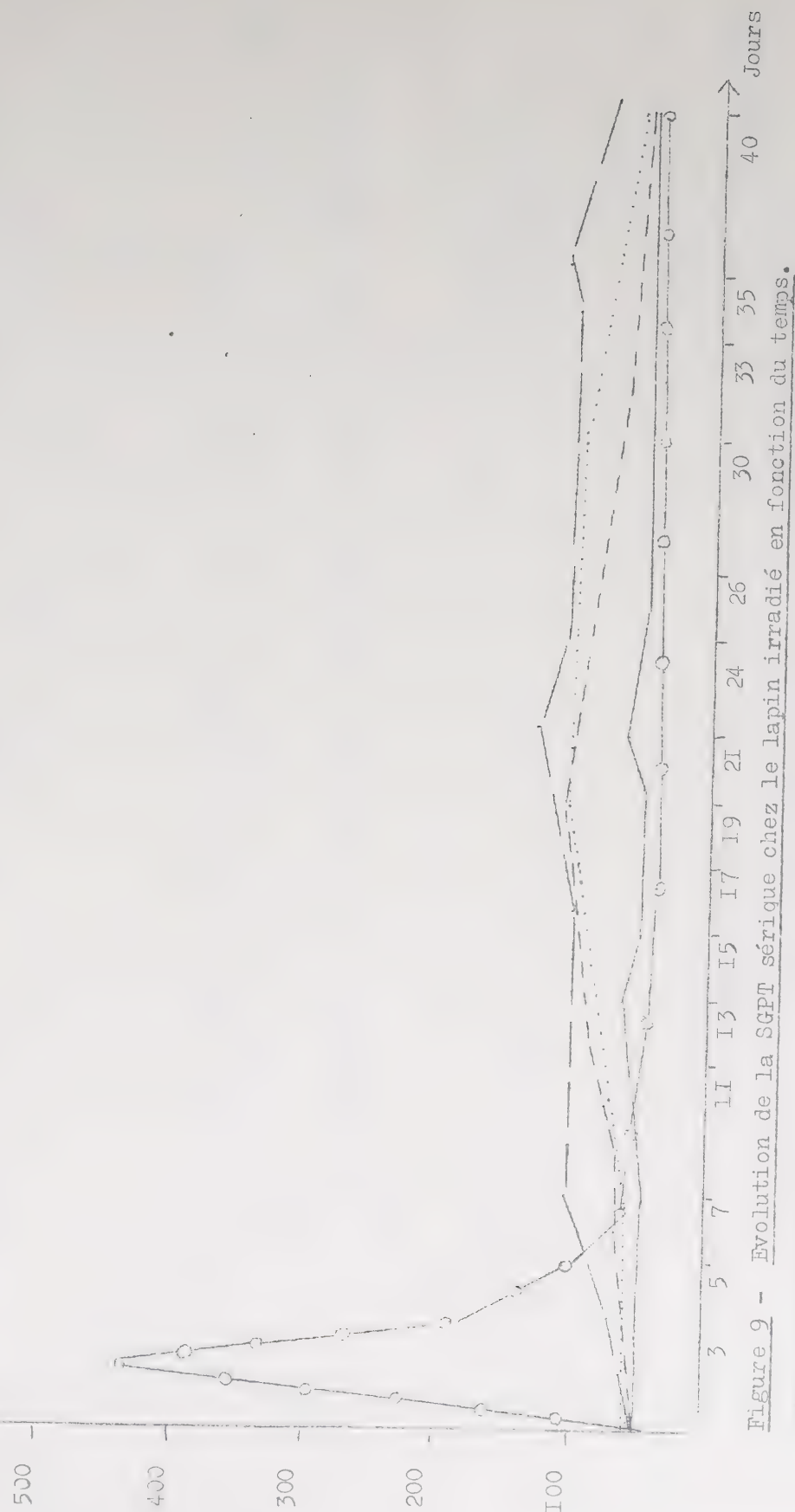
Unités SGPT
par ml de sérum

Figure 9 - Evolution de la SGPT sérique chez le lapin irradié en fonction du temps.
Lapins ayant reçu

— 120 r — 800 r

..... 300 r —○— C Cl₄

--- 500 r



Figure 10 - Evolution de la SGOT sérique chez le lapin irradié en fonction du temps.

Unités LDH
par ml de sérum

2000

1500

1000

500

3 5 7 11 13 15 17 19 21 24 26 30 33 35 40 Jours

Figure - Evolution de la LDH sérique chez le lapin irradié en fonction du temps

Lapins ayant reçu

— 120 r — 800 r

..... 300 r —○— C Cl₄

- - - 500 r

EVOLUTION DES ENZYMES SERIQUES (SCPT, SCOT et LDH) CHEZ LE LAPIN IRRADIE

Doses d'irradiation	120 r			300 r		
Déterminations	SCOT	SCPT	LDH	SCOT	SCPT	LDH
Avant irradi.	38 $\pm$ 4,3	61 $\pm$ 5	605 $\pm$ 24	33 $\pm$ 4,2	66 $\pm$ 7,4	465 $\pm$ 24
3 jours après	35 $\pm$ 5,4	60 $\pm$ 4,1	615 $\pm$ 41	33 $\pm$ 1,3	66 $\pm$ 4,3	587 $\pm$ 30
5 jours après	33 $\pm$ 4,2	59 $\pm$ 4,6	590 $\pm$ 32	48 $\pm$ 3,2	71 $\pm$ 9,2	553 $\pm$ 31
7 jours après	40 $\pm$ 3,2	63 $\pm$ 8,7	620 $\pm$ 16	57 $\pm$ 5,2	76 $\pm$ 7,3	586 $\pm$ 25
11 jours après	39 $\pm$ 2,3	65 $\pm$ 5,4	623 $\pm$ 7	53 $\pm$ 2,8	79 $\pm$ 7	645 $\pm$ 40
13 jours après	37 $\pm$ 4,1	70 $\pm$ 9,2	600 $\pm$ 39	44 $\pm$ 1,4	96 $\pm$ 9,1	572 $\pm$ 39
15 jours après	33 $\pm$ 4,4	61 $\pm$ 6,3	595 $\pm$ 41	54 $\pm$ 3,4	95 $\pm$ 7,2	646 $\pm$ 26
17 jours après	38 $\pm$ 5,3	62 $\pm$ 7,4	610 $\pm$ 37	62 $\pm$ 4,3	97 $\pm$ 4	651 $\pm$ 36
19 jours après	30 $\pm$ 1,3	60 $\pm$ 2,3	630 $\pm$ 42	50 $\pm$ 2,7	110 $\pm$ 6	666 $\pm$ 31
21 jours après	38 $\pm$ 2,4	71 $\pm$ 8,2	620 $\pm$ 36	50 $\pm$ 1,5	106 $\pm$ 7,1	543 $\pm$ 33
24 jours après	40 $\pm$ 2,8	58 $\pm$ 8,6	515 $\pm$ 24	54 $\pm$ 3,6	109 $\pm$ 9	510 $\pm$ 16
26 jours après	42 $\pm$ 2,9	63 $\pm$ 7,4	618 $\pm$ 27	55 $\pm$ 2,6	112 $\pm$ 6,3	498 $\pm$ 6
30 jours après	40 $\pm$ 3,2	60 $\pm$ 8,3	630 $\pm$ 29	50 $\pm$ 1,6	100 $\pm$ 7	500 $\pm$ 28
33 jours après	40 $\pm$ 1,7	65 $\pm$ 9	624 $\pm$ 31	44 $\pm$ 2,5	90 $\pm$ 6,5	505 $\pm$ 16
35 jours après	32 $\pm$ 1,9	63 $\pm$ 7,2	614 $\pm$ 7	33 $\pm$ 7,2	80 $\pm$ 4	480 $\pm$ 26
40 jours après	35 $\pm$ 4	58 $\pm$ 6	600 $\pm$ 13	31 $\pm$ 2,4	71 $\pm$ 9	495 $\pm$ 27

ÉVOLUTION DES ENZYMES SÉRIQUES (SGPT, SGOT et LDH) CHEZ LE LAPIN IRRADIÉ

500 r			800 r		
SGOT	SGPT	LDH	SGOT	SGPT	LDH
$\pm 4,5$	$65 \pm 4,9$	590 ± 11	$23 \pm 2,9$	$64 \pm 7,8$	670 ± 44
$\pm 2,3$	$67 \pm 4,5$	590 ± 44	$26 \pm 1,3$	$75 \pm 7,7$	620 ± 33
± 7	74 ± 5	630 ± 40	$32 \pm 3,9$	$76 \pm 4,4$	750 ± 12
$\pm 2,3$	$96 \pm 4,4$	663 ± 21	59 ± 9	$90 \pm 4,5$	680 ± 40
$\pm 4,4$	$88 \pm 2,3$	815 ± 13	44 ± 3	98 ± 9	740 ± 30
$\pm 3,4$	$101 \pm 8,9$	801 ± 17	40 ± 4	$92 \pm 5,5$	775 ± 22
$\pm 3,7$	$118 \pm 3,2$	790 ± 19	$49 \pm 4,3$	97 ± 4	883 ± 18
± 4	121 ± 2	828 ± 30	48 ± 4	$119 \pm 5,4$	870 ± 22
$\pm 5,5$	130 ± 6	810 ± 22	$48 \pm 4,7$	$108 \pm 4,3$	1005 ± 14
$\pm 4,3$	$138 \pm 4,1$	810 ± 14	$58 \pm 2,5$	$118 \pm 4,8$	900 ± 13
± 6	128 ± 9	870 ± 4	57 ± 7	126 ± 7	850 ± 33
± 2	$114 \pm 5,3$	745 ± 26	$50 \pm 4,1$	$125 \pm 6,6$	787 ± 11
± 3	$110 \pm 2,8$	708 ± 20	$47 \pm 4,9$	$119 \pm 3,9$	810 ± 20
$\pm 1,9$	$114 \pm 2,9$	715 ± 7	$42 \pm 5,1$	$110 \pm 3,3$	780 ± 42
$\pm 4,2$	92 ± 19	646 ± 31	39 ± 6	$114 \pm 8,8$	722 ± 21
± 2	71 ± 4	615 ± 34	39 ± 5	$82 \pm 4,5$	705 ± 36

TABLEAU V

EVOLUTION DES ENZYMES SERIQUES (SGOT, SGPT et LDH)
CHEZ LE LAPIN INTOXIQUE AU TETRACHLORURE DE
CARBONE

Détermination	SGOT	SGPT	LDH
Avant intoxication	49 $\pm$ 4,4	56 $\pm$ 4,4	513 $\pm$ 34
1 jour après	495 $\pm$ 12,1	249 $\pm$ 2,3	1446 $\pm$ 66
2 jours après	511 $\pm$ 4,3	460 $\pm$ 8	1706 $\pm$ 49
3 jours après	369 $\pm$ 3	242 $\pm$ 10,2	847 $\pm$ 34
4 jours après	149 $\pm$ 2,5	147 $\pm$ 8,4	566 $\pm$ 22
5 jours après	105 $\pm$ 6	93 $\pm$ 7,6	563 $\pm$ 38
6 jours après	88 $\pm$ 7,3	92 $\pm$ 9	506 $\pm$ 41
7 jours après	80 $\pm$ 4,1	62 $\pm$ 4,5	485 $\pm$ 16
8 jours après	60 $\pm$ 2,3	55 $\pm$ 2,3	452 $\pm$ 10
9 jours après	65 $\pm$ 3,4	50 $\pm$ 3,3	480 $\pm$ 13
15 jours après	59 $\pm$ 1,4	54 $\pm$ 6,7	510 $\pm$ 19
21 jours après	55 $\pm$ 3	51 $\pm$ 4,3	505 $\pm$ 29
30 jours après	50 $\pm$ 1,9	53 $\pm$ 2,7	490 $\pm$ 31
40 jours après	50 $\pm$ 5	19 $\pm$ 3,2	495 $\pm$ 21

POURCENTAGES D'AUGMENTATION DES TAUX DES ENZYMES
SÉRIQUES (SGOT, SGPT et LDH) CHEZ LE LAPIN IRRADIÉ et
INTOXIQUÉ AU TETRACHLORURE DE CARBONE

LAPINS IRRADIÉS					LAPINS INTOXIQUÉS		
	DOSES	AUGMENTATION MAXIMALE		RETOUR A LA	.AUGMENT. .MAXI.	jour	RETOUR au jour
		EN %	AU JOUR	NORMALE au jour			
SGPT	120	16	21	24	8,2	2	7
	300	67	19	40			
	500	97	21	40			
	800	117	24	40			
SGOT	120	10	26	30	10,5	2	7
	300	87	17	35			
	500	94 110	5 et 7 19	35			
	800	87	21	35			
LDH	120	4	30	35	3,3	2	4
	300	43	11 et 15	26			
	500	47	24	40			
	800	53	19	40			

CHAPITRE III

ELECTROPHORESE SUR PAPIER DES PROTEINES SERIQUES

Nous avons vu précédemment que de nombreuses publications faisaient état d'un déséquilibre protéique chez les animaux soumis à une irradiation corporelle totale ou partielle. Les variations quantitatives des différentes fractions protéiques isolées par électrophorèse sont d'ailleurs différentes d'une espèce animale à l'autre.

Nous avons voulu préciser, dans le cadre des tests que nous avons utilisés pour mettre en évidence l'atteinte hépatique chez le lapin irradié ou intoxiqué au tétrachlorure de carbone quelle était l'importance de ce déséquilibre protéique, à quel jour il apparaissait après une irradiation gamma des animaux, à quel moment s'effectuait un éventuel retour à la normale et s'il y avait une corrélation quelconque entre les données de l'électrophorèse, les déterminations enzymatiques effectuées et l'augmentation du catabolisme de la sérum albumine autologue.

III - 1 - Lapins irradiés

- Nous avons pratiqué les déterminations électrophorétiques selon la technique décrite plus haut (1ère partie - Chapitre II₃₋₃)

- Ces déterminations ont été effectuées sur chaque lapin avant irradiation, en fonction des doses de rayonnement administrées et tous les cinq à six jours pendant une quarantaine de jours.

- Les chiffres reproduits représentent une moyenne des déterminations effectuées sur

- . 6 animaux à 120 rads
- . 15 animaux à 300 rads
- . 12 animaux à 500 rads
- . 9 animaux à 800 rads jusqu'au 10 ème jour puis 6 animaux par la suite.

Les résultats, réunis dans le tableau VII sont exprimés par les pourcentages respectifs des différentes fractions protéiques du sérum du lapin, calculés avant irradiation (et avant intoxication au tétrachlorure de carbone) sur 48 lapins , les valeurs normales des pourcentages d'albumine ont été trouvées comprises entre 52 et 66 pour cent.

Notons en outre que chez certains lapins, nous avons retrouvé deux fractions alpha (alpha 1 et alpha 2) ce qui est conforme aux données de la littérature (152). Ces deux sous-fractions n'ayant pas été séparés chez tous les animaux (environ le quart d'entre eux et quelle que soit la dose de rayonnement administrée), nous avons indiqué dans le tableau VII le pourcentage global alpha 1 + alpha 2.

EVOLUTION DES FRACTIONS PROTEIQUES DU SERUM (DETERMINEES PAR ELECTROPHORESE SUR PAPIER) CHEZ LE LAPIN IRRADIE (POURCENTAGE RESPECTIF DES DIFFERENTES FRACTIONS)

Doses	Temps	Avant	3 j. après	7 j. après	13 j. après	17 j. après	24 j. après	30 j. après	35 j. après	40 j. après
120 r	albumine	58,4 ± 4,5	57,8 ± 5,1	61,2 ± 7	59,4 ± 4,9	58,6 ± 5,1	54,1 ± 6	59,3 ± 6,2	60,6 ± 4,6	59 ± 4
	alpha glob.	13,5 ± 1,2	10,4 ± 2,1	9,8 ± 1,1	13,1 ± 2,3	12,3 ± 2,3	14,5 ± 1,9	11,2 ± 3,2	10,8 ± 3	12,4 ± 4,1
	béta glob.	10 ± 0,8	12,6 ± 1,9	14,5 ± 2	8,9 ± 4,1	11,2 ± 1,9	10,2 ± 3,3	12,7 ± 3,3	11,6 ± 2,7	9,3 ± 0,6
	gamma glob.	18,1 ± 2,3	19,2 ± 3,2	14,5 ± 4,1	18,6 ± 3,8	17,9 ± 2,7	21,2 ± 4,1	16,8 ± 4	17 ± 2,3	19,3 ± 2,5
300 r	albumine	58,6 ± 8,1	58 ± 6,8	53,5 ± 8,1	50 ± 4,1	51,2 ± 4,2	54,3 ± 5,3	57,1 ± 5,4	61,2 ± 4,2	60,8 ± 5,9
	alpha glob.	11,8 ± 4,3	11,2 ± 4,1	15,5 ± 3,2	16,5 ± 1,2	16,1 ± 1,4	16,4 ± 2,1	15 ± 2,7	12,4 ± 1,4	11,1 ± 3,2
	béta glob.	12,3 ± 2,3	13,4 ± 2,1	14,6 ± 2,3	15 ± 3,6	14,7 ± 2,9	15,2 ± 0,4	14,8 ± 3,5	13,7 ± 3,1	11,8 ± 3,7
	gamma glob.	17,3 ± 1,4	17,1 ± 1,9	16,4 ± 1,8	18,5 ± 3,3	18 ± 2,5	14,1 ± 3,2	13,1 ± 3,3	12,7 ± 2,7	16,3 ± 4,1
500 r	albumine.	56,8 ± 4,5	56,2 ± 6,4	46,5 ± 4,6	47,2 ± 4,2	46,4 ± 5,9	49,2 ± 3	54,2 ± 4,1	50,7 ± 7,3	63,1 ± 4,9
	alpha glob.	12 ± 2,3	12,4 ± 4,6	15,5 ± 3,4	14,9 ± 2,1	13,3 ± 3,2	13,7 ± 2,7	11,2 ± 3,3	13,8 ± 1,4	11 ± 3,4
	béta glob.	13,1 ± 2,4	14,5 ± 2,1	16,7 ± 3,5	15,8 ± 3,6	14,9 ± 3,3	14,1 ± 3,4	14,3 ± 4	11,5 ± 3,2	11,1 ± 0,5
	gamma glob.	18,1 ± 1,2	16,9 ± 1,9	21,3 ± 2,7	22,1 ± 1,2	25,4 ± 2,9	23 ± 2,7	20,3 ± 4,4	24 ± 4	14,8 ± 6,9
800 r	albumine.	61,3 ± 6,8	61 ± 8,1	50,4 ± 6,1	39,8 ± 5,7	42,6 ± 5,3	47,1 ± 5,7	57,3 ± 7,2	60,1 ± 5,4	64,3 ± 5,9
	alpha glob.	12,4 ± 2,4	10,1 ± 4,1	14,2 ± 4,3	15,1 ± 3,5	15,9 ± 1,4	14,7 ± 1,2	9,8 ± 2,1	14,5 ± 1,2	11,4 ± 3,6
	béta glob.	11,9 ± 2,6	12,2 ± 2	17,7 ± 3,2	21,3 ± 2,7	22,8 ± 2,1	18,4 ± 3,1	11,5 ± 2,7	10,3 ± 2,9	10,9 ± 4,3
	gamma glob.	14,4 ± 1,3	16,7 ± 6	17,7 ± 1,9	23,8 ± 3,3	18,7 ± 1,4	19,8 ± 3	21,1 ± 3,4	15,1 ± 4,3	13,4 ± 2

III - 2 - Lapins intoxiqués au tétrachlorure de carbone

Les chiffres reproduits dans le tableau VIII représentent une moyenne des déterminations effectuées sur 6 animaux intoxiqués.

TABLEAU VIII

EVOLUTION DES FRACTIONS PROTEIQUES DU SERUM CHEZ
LE LAPIN INTOXIQUE AU TETRACHLORURE DE CARBONE

JOURS	AVANT	2	4	7	10	14	18	24	30	40
albumine	61,2 + 5,5	61,8 + 6,4	63,4 + 7,2	59,8 + 3,9	56,4 + 4	57 + 5,3	62,3 + 7	61 + 4,2	65,4 + 3,6	61,3 + 4,9
alpha gl	11,5 + 3,4	10,4 + 4,3	9,8 + 2,1	11,9 + 1,9	13,1 + 0,8	9,8 + 3,2	11,2 + 4,2	12,3 + 3,3	11,1 + 2,7	10,4 + 2,4
béta gl	11,2 + 1,4	10,1 + 1,9	14,2 + 3,2	13,3 + 2,3	12,2 + 3,2	11,9 + 1,4	11,1 + 2,7	10,7 + 2,9	11,8 + 3,1	10,7 + 1,9
gamma gl	16,1 + 2,2	17,7 + 4,1	12,6 + 3,3	15 + 4,3	18,3 + 2,3	21,3 + 1,7	15,4 + 3,8	16 + 2,3	11,7 + 2,1	17,6 + 1,8

De la même manière que nous l'avons fait pour les enzymes nous avons réuni dans un même tableau (IX) les diminutions maximales de l'albumine avec le jour où elles se produisent. Les variations des taux relatifs de l'albumine sérique en fonction du temps et des doses administrées sont représentées par les courbes de la figure n° 12.

L'étude des résultats de ces déterminations électrophorétiques ainsi que celle de l'évolution du pourcentage de la sérum albumine en fonction du temps après irradiation gamma à différentes doses ou après intoxication au tétrachlorure de carbone montre que :

- les altérations significatives de l'électrophorégramme ne s'observent que pour des doses de rayonnement de plus de 300 rads , à 300 rads la baisse de l'albumine n'est que de 13 % au 13 ème jour et elle est rapidement compensée.

Par contre, à 800 rads, et à un degré moindre à 500 rads, nous observons une chute nette des albumines à partir du septième jour, qui reste importante jusqu'au 25 ème à 30 ème jour.

Dans tous les cas, le spectre protéique s'est normalisé à partir du 30 ème jour.

Après intoxication au tétrachlorure de carbone, nous n'avons noté aucune modification significative de l'électrophorégramme. La baisse maximale obtenue vers le dixième jour de l'essai ne représente que 7,5 % de la teneur en albumine du sérum.

Quant à l'évolution des autres fractions protéiques, nous ne pouvons tirer aucune conclusion de nos essais. Les taux relatifs des fractions alpha et bêta, varient aussi bien dans le sens d'une augmentation que d'une diminution.

Pour les gamma globulines, nous n'avons noté aucune variation significative à 120 rads, ni sous intoxication au tétrachlorure de carbone ; nous avons pu cependant dégager une nette tendance à l'augmentation de cette fraction, dans des proportions parfois importantes après irradiation des animaux au doses de 500 rads et 800 rads.

Ces variations sont rapportées dans le tableau X.

Pourcentage d'albumine
sérique.

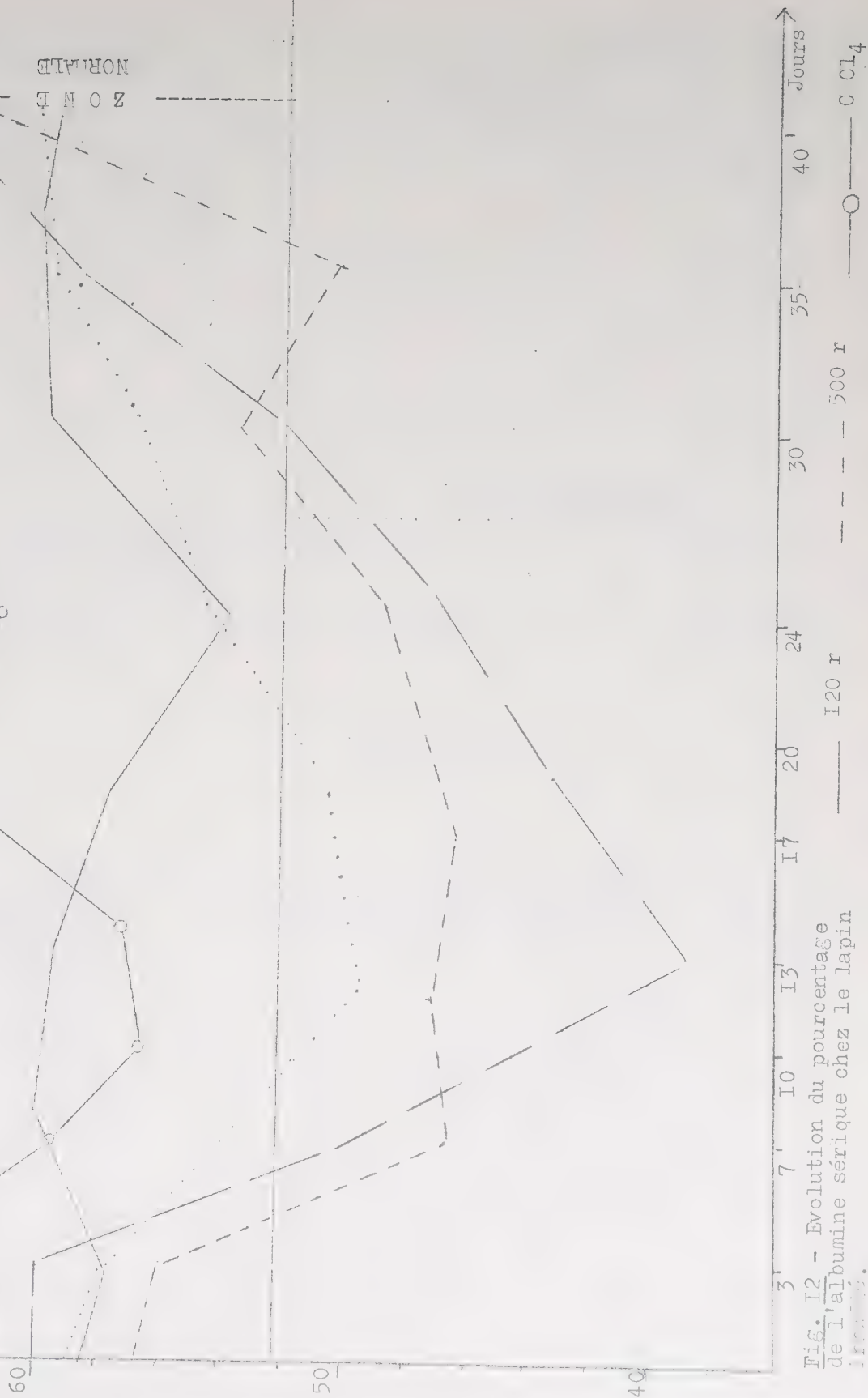


Fig. 12 - Evolution du pourcentage de l'albumine sérique chez le lapin.

Lapins ayant reçu

..... 300 g

— 500 g

—○— 800 g

TABLEAU IX

LAPINS AYANT RECU	DIMINUTION MAXIMALE de L'ALBUMINE		RETOUR à la NORMALE
	en pourcentage	au jour	
120 r	7,4	24	les pourcentages de l'albumine restent dans les taux normaux.
300 r	13	17	24
500 r	18,3	7 et 17	30
800 r	35 et diminution nette à partir du jour.....	13 7	35
C Cl ₄			les pourcentages de l'albumine restent dans les taux normaux.

TABLEAU X

LAPINS AYANT RECU	AUGMENTATION MAXIMALE des GAMMA GLOBULINES		DEBUT de L'AUGMENTATION significative au jour
	en pourcentage	au jour	
500 R	40	17	7 à 13
800 R	65	13	13

C) ESSAI D'INTERPRETATION des RESULTATS

Les données expérimentales que nous rapportons dans ce travail

s'inscrivent en majeure partie dans le cadre des recherches portant sur l'altération du métabolisme protéique de l'animal soumis à différentes agressions, en l'occurrence les radiations ionisantes (rayonnement gamma du cobalt 60) et un agent présentant une hépatotoxicité relativement élective, le tétrachlorure de carbone. On peut admettre en effet que les variations qualitatives et quantitatives des protéines circulantes sont un reflet assez fidèle du métabolisme général, et dans le contexte du métabolisme protéique, nous avons rappelé l'intérêt particulier qui s'attache à l'étude de la sérum albumine.

Sa synthèse et , à un degré moindre, son catabolisme électivement hépatique , son rôle parmi les réserves de l'organisme en protéines, l'isolement relativement aisé de cette fraction, constituant majeur des protéines sériques, sont autant de raisons qui ont dicté notre choix.

Il nous faut cependant discuter des techniques mises en oeuvre dont la reproductibilité et la précision conditionnent la valeur de nos résultats et leur signification.

I - VALIDITE DES TESTS RETENUS

1) Spécificité de la sérum - albumine

Pour étudier le catabolisme de la sérum albumine chez le lapin, il nous a paru nécessaire d'utiliser une sérum albumine autologue, c'est à dire une sérum albumine de lapin, pour éviter d'introduire dans l'évaluation de la demi-vie biologique de cette protéine toute cause d'erreur inhérente à des réactions de type antigénique d'une espèce animale à l'autre.

La technique d'isolement de l'albumine par l'alcool trichloracétique que nous avons retenue, nous a permis d'obtenir en quantité suffisante, après lyophilisation, une protéine présentant les critères de pureté nécessaires à la bonne marche de l'étude catabolique envisagée.

Certes, nos expérimentations ont été pratiquées en plusieurs fois, c'est-à-dire qu'à chaque nouvelle série d'animaux était injectée une albumine provenant de pools de sérums différents de ceux utilisés dans la série expérimentale précédente. Mais l'écart type d'environ dix pour cent obtenu pour le calcul de la demi-vie de la sérum albumine autologue chez les lapins témoins dans nos diverses expériences laisse à penser que les écarts beaucoup plus importants enregistrés lors d'une irradiation gamma ne proviennent pas de variations dues à des pools de sérums hétérologues. D'ailleurs, il ne semble pas exister, à notre connaissance, d'immun-sérum d'un lapin à un autre dans une race déterminée de ces animaux.

2) Marquage de la sérum albumine

Nous avons vu que dans la technique utilisée, la quantité d'iode fixée par molécule de protéine était inférieure à celle pouvant modifier la spécificité physique et chimique de la sérum albumine.

L'élimination de l'iode libre en excès, retenu sur la colonne échangeuse d'ions, évite le risque de voir se modifier la protéine lors de son vieillissement. Nous avons de plus vérifié par autoradiographie l'absence d'échange d'élément radioactif entre les différentes fractions protéiques du sérum, l'iode 131 restant tout au long de l'essai lié sur la fraction albumine, ce qui justifie et rend valables les compléments pratiqués sur sang total pour suivre la décroissance radioactive de l'albumine.

3) Irradiation

Pour étudier les variations du métabolisme de l'albumine, protéine synthétisée au niveau du foie, nous avons choisi d'effectuer des irradiations corporelles totales, avec des doses uniques, administrées dans un champ uniforme d'irradiation, la dosimétrie étant assurée avec une précision de l'ordre de $\pm 5\%$. Nous ne pensons pas que des doses fractionnées ou des irradiations localisées, au niveau du foie par exemple, nous auraient permis d'avoir des résultats plus significatifs.

4) Intoxication hépatique par un agent chimique

Elle a été pratiquée à l'aide du tétrachlorure de carbone (voie sous cutanée) ; le choix a été dicté par la rapidité d'apparition de l'atteinte de l'hépatocyte, la reproductivité des lésions anatomopathologiques et des variations biologiques enregistrées qui en font un toxique à tropisme hépatique classiquement utilisé par de nombreux auteurs (39).

A cet égard, il est intéressant de remarquer que l'administration d'un tel composé s'accompagne d'hyperenzymémies extrêmement importantes alors que les taux des protéines sériques ne varient pas de façon significative .

Cette dissociation contraste nettement avec ce qu'on observe dans des états pathologiques et notamment les cirrhoses.

II - SIGNIFICATION DES DONNÉES EXPERIMENTALES RECUEILLIES

1) - La demi-vie de la sérum albumine iodée radiolodée chez le lapin : ses variations

Les essais effectués chez le lapin à partir d'une sérum albumine auto-logue marquée à l'iode 131 nous ont permis d'établir la demi-vie de cette protéine chez cet animal . Celle-ci est en moyenne de $27,6 \pm 2,7$ heures. Cette valeur peut être considérée comme particulièrement faible, elle est cependant en accord avec les données expérimentales mentionnées par d'autres auteurs (140).

Il faut souligner toutefois la discordance des chiffres relevés dans la littérature. Si SWARTZ et DAMESHEK (146) ont trouvé une demi-vie de 36 heures environ, SUROVIKINA trouve des valeurs de l'ordre de 4, 5 jours (153) et PINA note une demi-vie de 9 jours (125).

De telles variations s'expliquent difficilement chez des animaux " normaux ", KRUIH (88.) a souligné l'importance du régime alimentaire, surtout en ce qui concerne les apports protéiques ; d'autres chercheurs ont montré que le taux de catabolisme des protéines plasmatiques était réduit chez les animaux soumis à une diète protéique (147) et qu'un tel régime augmentait la demi-vie de l'albumine sérique, mais non celle des globulines (70, 149).

La réduction de ce catabolisme peut également être dû au recyclage et à la réutilisation de l'albumine partiellement ou complètement dégradée en acides aminés. On entend par réutilisation, l'incorporation dans les protéines d'acides aminés provenant du catabolisme des protéines corporelles et non de la nourriture. Ainsi dans un régime sans protéine, toute la synthèse de l'albumine peut correspondre à un tel processus.

°(Ce facteur est surtout intéressant en ce qui concerne les acides aminés incorporés à nouveau de façon importante dans les protéines au niveau de l'hépatocyte. Pour l'arginine par exemple il a été défini par SWICK (154) comme la probabilité qu'a cet amino-acide, libéré au cours du catabolisme des protéines plasmatiques, de se réincorporer dans les protéines. Elle serait de 50 pour cent).

Mais on peut admettre que si l'on administre toujours un régime standard protéiquement équilibré, cette réutilisation est la même au cours de l'essai pour tous les animaux et n'influence pas ou très peu les valeurs de la demi-vie de la sérum albumine telle que nous l'avons définie chez le lapin.

Il doit donc exister d'autres explications au fait que les mesures de la demi-vie de la sérum albumine présentent de telles discordances d'un auteur à l'autre.

On peut invoquer la non identité (quant au comportement biologique) de la protéine marquée à l'iode 131 avec la protéine initiale. Nous avons souligné que notre méthode de marquage isotopique fournissait une protéine physico-chimiquement identique à la protéine de départ (le taux de marquage étant limité à moins d'un atome d'iode par molécule d'albumine), et il semble que le lapin ne fasse pas la différence entre sa propre albumine et une albumine autologue marquée à l'iode 131 avec 0,5 ou 1 atome d'iode par molécule.

Si le taux de marquage est supérieur à 3 atomes d'iode par molécule il a été constaté que le taux du catabolisme augmente progressivement.

Mais il a été admis aussi par certains auteurs que le "turn-over" des protéines iodées, même avec un faible taux en iode est en général plus rapide que celui des mêmes fractions protéiques marqués au carbone 14 (56) ou au soufre 35 (38, 160).

Quoiqu'il en soit, nos essais ont toujours été effectués dans des conditions identiques à tous les niveaux de l'expérimentation, qu'il s'agisse de l'écologie des animaux, des techniques d'isolement et de marquage de la sérum albumine, des irradiations, des injections de cette protéine et de la détermination de sa demi-vie, ce qui, nous semble-t-il, permet de comparer valablement les résultats entre lapins témoins et traités.

2) - Influence de l'irradiation sur la demi-vie de l'albumine sérique.

Nous avons vu que chez le lapin soumis à une irradiation corporelle totale due à un rayonnement gamma à des doses de 120, 300, 500 et 800 rads, la demi-vie de la sérum albumine autologue radioiodée diminuait de façon significative à partir d'une dose de 300 à 500 rads lorsque cette détermination était effectuée.

immédiatement après irradiation.

Notons en outre qu'une irradiation à 120 rads ne semble pas suffisante pour perturber le catabolisme de la sérum albumine, une dose de 300 rads paraissant être la dose " seuil " à partir de laquelle un tel effet peut être observé.

L'albumine sérique n'est d'ailleurs pas la seule fraction protéique du sérum atteinte sous irradiation ; les modifications portent sur l'ensemble du spectre protéique et une diminution du taux global des protéines du sérum est concomitant avec celle de l'albumine alors que l'augmentation des gamma-globulines ne semble qu'être apparente et non compensatrice.

Par ailleurs la modification du spectre protéique, traduisant l'atteinte hépatique, est plus ou moins importante selon la dose de rayonnement gamma administrée à l'animal et est d'autant plus accusée que celle-ci est plus forte.

D'autre part, c'est aux mêmes doses (à partir de 300 rads et surtout à 500 et 800 rads qu'augmentent de manière significative les taux des enzymes sériques (SGOT, SGPT, LDH).

Pour n'être pas d'une importance quantitative extrême, les hypérynzymémies observées n'en sont certainement pas moins le reflet d'une atteinte hépatique dont la durée est d'environ trente jours après l'irradiation, et sans aucune mesure avec celles observées après administration d'un composé hépatotoxique tel que le tétrachlorure de carbone.

3) - Influence du temps

Un deuxième point à souligner est le facteur temps au bout duquel les effets des radiations ionisantes atteignent leurs valeurs extrêmes.

Nous avons vu que l'effet de l'irradiation est maximal sur le catabolisme de la sérum albumine après un temps de latence qui, dans les conditions expérimentales décrites, est de 9 jours chez le lapin. Au delà, la valeur de la demi-vie de la sérum albumine revient à des valeurs plus proches de celle obtenus chez les témoins.

Il nous paraît à cet égard particulièrement intéressant de remarquer qu'il existe une corrélation certaine entre ce laps de temps et celui qui est nécessaire pour observer la chute maximale du taux des albumines sériques (de 7 à 13 jours dans la quasi totalité des cas où la diminution est suffisamment significative). Par contre au bout de seize jours, les valeurs obtenues pour la détermination de la demi-vie de l'albumine sérique tendent à évoluer vers des valeurs subnormales alors que les différentes fractions protéiques du sérum du lapin irradié ne retrouvent leur équilibre qu'après une période d'au moins trente jours.

L'évolution est essentiellement différente chez le lapin intoxiqué par un agent hépatotoxique tel que le tétrachlorure de carbone ; si les taux d'enzymes sériques voient leurs valeurs parfois décupler (SGOT) dans les 48 heures suivant l'administration du composé toxique, le catabolisme de la sérum albumine objectivé par la demi-vie de cette fraction n'est guère modifié et les électrophorègrammes sont très proches de la normale ; les variations observées sont de l'ordre de 5 à 7 pour cent en plus ou en moins pour l'albumine sérique pendant l'expérience, ce qui correspond aux variations physiologiques et à la précision de la technique mise en oeuvre.

Un temps de latence encore plus prolongé a été observé pour les enzymes sériques ; la montée des SGOT, SCPT et LDH après irradiation est toujours très limitée et progressive jusqu'à un palier qui semble atteint vers le 15 ème à 20 ème jour de l'essai.

L'ensemble de ces données montre combien est différente l'atteinte hépatique par irradiation de celle provoquée par le tétrachlorure de carbone. Les hypérenzymémies consécutives à l'administration de ce solvant chloré représentent jusqu'à 10 fois les taux normaux. Mais ces effets sont relativement fugaces et les valeurs maximales sont atteintes en général dans les 48 heures.

D'autre part la demi-vie de l'albumine sérique et les taux des différentes fractions protéiques ne sont pas ou très peu modifiés lors d'une intoxication par cet agent hépatotoxique.

Quelle que soit la dose d'irradiation, les effets observés au niveau du foie semblent ainsi très différents de ceux qui correspondent à une hépatite toxique expérimentale aigue.

Ainsi, les données expérimentales que nous avons rapportées ont démontré sans ambiguïté, semble-t-il que le catabolisme de la sérum albumine est accéléré chez les animaux soumis à une irradiation corporelle totale, et qu'un temps de latence relativement important sépare l'irradiation de l'effet maximal sur l'albumine et les autres fractions protéiques du sérum. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus indépendamment par WETTERFORS (163) et BROMFIELD (24) qui, étudiant l'effet des radiations ionisantes sur le catabolisme de la sérum albumine marquée à l'iode 131 chez le lapin, trouvent une hypo-albuminémie franche, une augmentation graduelle du catabolisme de cette protéine sérique pour des doses allant jusqu'à la dose létale 50 pour cent, et notent qu'aux doses plus fortes il est impossible d'étudier le catabolisme, car il existe alors une considérable rétention extravasculaire de l'albumine. Ce phénomène doit être lié à une perméabilité capillaire augmentée, surtout au niveau de l'intestin grêle, et à une absorption déficiente des produits de dégradation.

L'étude du catabolisme de la sérum albumine autologue a été faite également chez l'homme pour suivre l'évolution d'une hépatite chronique (148). Les auteurs de ces travaux signalent une diminution nette de la demi-vie de la sérum albumine humaine marquée à l'iode 131 et estiment que ce test, traduisant un état catabolique exagéré chez de tels malades, signe une altération profonde de la glande hépatique lorsqu'il s'accompagne d'une dysprotéïnémie notable.

CONCLUSIONS

L'étude du métabolisme de la sérum-albumine et les taux de certains enzymes sériques, transaminases, lacticodeshydrogénase... présentent un intérêt particulier dans le cadre des recherches portant sur les effets hépatotoxiques de nombreux agents physiques et chimiques.

Nous avons étudié le catabolisme de la sérum-albumine chez le lapin soumis à une irradiation corporelle totale (rayonnement gamma du cobalt 60).

Les essais effectués en faisant appel à une albumine autologue marquée à l'iode 131 nous ont permis d'établir la demi-vie de cette protéine sérique. Celle-ci est en moyenne de 27 heures ($\pm 2,7$), valeur relativement faible mais en accord avec d'autres données de la littérature.

Chez le lapin irradié à des doses de 300, 500 et 800 rads, la demi-vie de l'albumine diminue de façon significative. L'effet de l'irradiation est maximal après un temps de latence qui, dans les conditions expérimentales adoptées, est de neuf jours ; on peut alors observer des diminutions de la demi-vie de la sérum-albumine supérieures à 50p. 100. Il y a semble-t-il une corrélation entre ce laps de temps et celui qui est nécessaire pour constater la chute maximale des protéines sériques (7 à 13 jours).

Les variations des taux des enzymes sériques témoignent également d'une atteinte hépatique plusieurs jours après une irradiation totale, mais les valeurs obtenues pour les transaminases et la lacticodeshydrogénase ne peuvent être comparées avec celles qui suivent une intoxication aigue avec un agent hépatotoxique comme le tétrachlorure de carbone.

Ce composé par contre n'a pratiquement aucun effet sur le catabolisme de l'albumine ni sur les proportions relatives des fractions protéiques présentes dans le sérum du lapin.

Les techniques mises en oeuvre permettent donc de suivre l'évolution des atteintes hépatiques consécutives à une irradiation totale de l'organisme et nos résultats soulignent les différences qui existent entre les effets sur l'hépatocyte d'un rayonnement ionisant et ceux qui correspondent à une hépatite toxique aigue.

Le Président de la Thèse :

Professeur J. F. CIER

Vu et permis d'imprimer

LYON, le 29 Juin 1967

Vu, le Doyen :

J. F. CIER

Le Recteur, Président du

Conseil de l'Université

P. LOUIS

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ABDEL-SAMIE (YM), BRODA (E) et KELLNER (C).
The autonomous production of individual serum proteins by tissue in culture.
Biochem. J. 1960, 75, 209-215.
- 2 - ABDOU (IA) et TARVER (H).
Plasma protein-IV - Results with generally labelled plasma protein.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 1952, 79, 102-106
- 3 - ABRAMOFF (P), MYUNG MOO CHOE, SANFELIPPO (PM).
Irradiation of the exteriorized circulation blood of rabbits. Serum protein changes.
Radiat. Res. 1963, 20, 658-67.
- 4 - ANGELICC (R), CARPARRINI (C), CAVINA (M), MORETTA-MACCIORRE (L), QUINTILIANI (M).
Effetti delle radiazioni sulla composizione del siero e del fegato del ratto.
Ann. Ist. Sup. Sanital. 1965, 1, n°11-12, 698-707
- 5 - ANKER (HS).
The biosynthesis of plasma proteins. IN "The plasma ProteinII"
F W PUTMAN Edit. Academic Press-New York, 1960 Chap. 16 267-307.
- 6 - BABSON (AL).
The rate of loss of labelled plasma proteins from the circulation of tumor bearing rats.
Biochem. Biophys. Acta 1956, 20, 418.
- 7 - BACC (ZM) et ALEXANDER (P).
Fundamentals of radiobiology 1961 - Oxford.
- 8 - BAKER (DG), CARSTEN (AL), et SAFFORD (C).
A method of characterising protein changes in serum after X irradiation
Radiat. Res. 1963, 20, 431, 42.
- 9 - BECKER (FF), WILLIAMS (RB Jr) et VOOGD (J).
Effect of X irradiation in sublethal to supralethal dosage on serum glutamine oxalacetic transaminase.
Radiat. Res. 1963, 20, 221-6.

- 10 - BEEKEN (NL) et IMREDY (K).
Catabolism of human albumin in vitro by subcellular fractions of human liver cells.
Gastroenterology 1963, 44, 863-4.
- 11 - BEEKEN (WL) et WARREN (L).
In vitro metabolism of human serum albumin by subcellular fractions of hepatic tissue from man.
J. Lab. Clin. Med. 1965, 65, 649-58 d'après B.A. 1965 46 n°83 381.
- 12 - BENJAMIN (TL) et YOST Jr. (HT).
The mechanism of uncoupling of oxidative phosphorylation in rat spleen and liver mitochondria after whole body irradiation.
Radiat. Res. 1960, 12, 613-25.
- 13 - BENNET (LR), CHASTAIN (SM), DECKER (AB) et MEADE (JF).
Effect of roentgen irradiation upon protein absorption in mouse.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 1951, 77, 715.
- 14 - BETZ (EH).
Etude des modifications thyroïdiennes après irradiation totale de l'organisme.
C. R. Soc. Biol. 1952, 146, 315-18.
- 15 - BETZ (EH).
Contribution à l'étude du syndrome endocrinien provoqué par l'irradiation totale de l'organisme.
1 Volume-MASSON Editeurs, Paris. 1956.
- 16 - BETZ (EH).
Irradiation et métabolisme protéique.
Rev. Franç. Etudes Biol. Clin. 1958, 387-95.
- 17 - BETZ (EH) et JEHOTTE (J).
Influence de la surrénale sur l'équilibre azoté du rat soumis à une irradiation létale.
C. R. Soc. Biol. 1954, 148, 943.
- 18 - BIRKE (G).
Synthèse, catabolisme et distribution normale de l'albumine et de la gamma globuline.
Médecine et Hygiène 1964, n°667, 1111-15

- 19 - BIRKE (G), LILJEDAHL (SC), PLANTIN (LO) et WETTERFORS (J).
Acute radiation injury pathophysiologic aspects of the massive leakage of albumin in the gastrointestinal tract.
Nature 1962 , 194 , 1243-5.
- 20 - BOND (VP), FIEDNER (TM) et ARCHAMBEAU (JO).
Dans le livre : Mammalian radiation lethality
Academic Press. 1965 p. 252- 75
NEW-YORK and LONDON.
- 21 - BRACKEN (JS) et KLOTZ (IM).
A simple method for the rapid determination of serum albumin.
Am. J ; Clin. Pathol . 1954 , 23 , 1055-8.
- 22 - BRAUN (GA), MARSH (JB) et DRABKIN (DL).
Synthesis of plasma albumin and tissue proteins in regenerating liver.
Metab. Clin. Exptl. 1962, 11 , 957-66.
- 23 - BRAUN (H) , HORNUNG (G) , HEISE (ER).
The effect of roentgen whole body irradiation on enzymatic activity of leucine aminopeptidase, GOT and GPT in various organs of mice.
Strahlentherapie 1963, 122 , 211-21.
- 24 - BRCOMFIELD (AR) et DYKES (PW).
Radiation induced protein leakage into the small intestine.
Nature 1964 , 201 - 633-4.
- 25 - BUSANNY- CASPARI (W) et DEIMEL.
Untersuchungen mit H^3 markierten Aminosäuren zur Proteinsynthese in der regenerierenden Rattenleber.
Zeit. Ges. Exptl. Med. 1963, 136 , 456-65.
- 26 - CABAUD (PG) et WROBLEWSKI (F).
Colorimetric measurement of LDH activity of body fluids.
Amer. J. Pathol . 1958, 30 , 234.
- 27 - CAMPBELL (PN).
The synthesis of serum albumin by the microsome fraction of the liver.
Protein Biosynthesis. Academic Press 1961 London and New-York
Edited by RJC. Harris.
- 28 - CAMPBELL (PN), GREENGARD (O) et KERNOT (BA).
Studies on the synthesis of serum albumin by the isolated microsome fraction from rat liver.
Biochem. J. 1960, 74 , 107.

- 29 - CAMPBELL (PN) et STONE (NE).
The synthesis of serum albumin and tissue proteins in slices of rat liver and liver tumour.
Biochem. J. 1957 , 66 , 19-31.
- 30 - CAMPBEIL(PN) et STONE (NE).
The role of serum albumin as a precursor of the soluble tissue proteins and the serum globulins of the rat bearing liver tumours.
Biochem. J. 1957 , 66 , 669-77.
- 31 - CASTER (WO) et ARMSTRONG (WD).
Electrolyte metabolism after total body X irradiation.
Radiat. Res. 1956 , 5 , 189-202.
- 32 - CHABADACH (AL), ZELIKINA (TL) et ACRATCHEVA(ND).
Discours de l'Académie des Sciences de l'URSS 1961 Tome 136
N° 1p. 122.
- 33 - CHARLWOOD (PA).
Molecular weights of rat, rabbit and guinea pig serum albumins.
Biochem. Biophys. Acta 1959, 32 283-84
- 34 - CHEBOTAREV (EE).
Changes in serum protein fraction in dogs having radiation disease.
Fiziol. Zhur. Akad. Nauk 1961, 7 , 83-91
- 35 - CLARK (IJ).
Effect of cortisone upon protein synthesis.
J. Biol. Chem. 1953, 200 , 69-76
- 36 - COHEN (S).
Plasma protein distribution and turn-over in the female baboon.
Biochem. J. 1956 , 64 , 286-96
- 37 - COHEN (S) et CORDON (AH).
Catabolism of plasma albumin by the perfused rat liver.
Biochem. J. 1958 , 70 , 544-71
- 38 - COHEN (S), HOLLOWAY (RC), MATTHEWS (C) et MAC FARLANE (AS).
Distribution and elimination of ^{131}I and ^{14}C labelled plasma proteins
Biochem. J. 1956, 62 , 143-154

- 39 - COQUET (B).
Hépatites expérimentales et tests de triage des médicaments hépato-Protecteurs.
Thèse d'état en pharmacie. LYON. 1964.
- 40 - CREASY (WA) et STOCKEN (LA).
Biochemical differentiation between radiosensitive and non radio-sensitive tissues in the rat.
Biochem. J. 1958, 69, 17 P.
- 41 - D'AMELIO (V) et PERLMANN (P).
The distribution of soluble antigens in cellular structures of rat liver.
Exptl. Cell. Res. 1960, 19, 383-97
- 42 - DARAKHVELIDLE (DA).
Influence of various types and doses of irradiation on the protein composition of the blood serum of rabbits.
Me. Radiol. 1961, 6, (11), 47-53.
- 43 - DELAVILLIE (G) et DELAVILLE (J).
Caractère de solubilité de la fraction albuminique du sérum sanguin dans l'acide trichloracétique. Son application au dosage des différentes fractions protéiques.
Ann. Pharm. Franc. 1954, 12, 109-113.
- 44 - DOSE (K) et RADEWSKI (B)
The chemistry of direct and indirect radiation effects : Amino acids.
Biochem. Z. 1958, 330, 131-40
- 45 - DUMONT (PA) et GILLET (RE)
Méthode de préparation de la sérum albumine marquée à l'iode 131 sous forme de solution injectable.
J. Pharm. Belg. 1962, 17, 365-81
- 46 - FEDOROVSKII (LL).
Transaminase activity of the blood as an index of liver affection in acute radiation sickness.
Med. Radiol. 1964, 9 (5), 35-39
- 47 - FISHER (MA), MAGEE (MZ) et COULTER (EP).
Studies on the serum proteins of the X irradiated rat.
Arch. Biochem. Biophys. 1955, 56, 66-75

- 48 - FLAVIN (M) et AFINSEN (CB).

The isolation and the characterization of cysteic acid peptides in studies on ovalbumin synthesis.
J. Biol. Chem. 1954 , 211 , 375-90

- 49 - FLODIN (F) et KILLANDER (J).

Fractionation of human serum proteins by gel filtration.
Biochem. Biophys. Acta. 1962, 63 , 403-401

- 50 - FRANCIS (GE) , HAWKINS (JD) et FORMALL (A).

The use of radioactive isotopes in immunological investigations.
Biochem. J. 1957 , 65 , 560-69.

- 51 - FREEMAN (T).

The biological behaviour of normal and denaturated plasma albumin.
Clin. Chim. Acta. 1959 , 4 , 788-792

- 52 - GAMBURSTEVA (AG).

Protein fraction of the blood plasma of mammals after irradiation by different doses of roentgen irradiation.
Vozlorsw. Akad. Nauk. SSR. 1960 , 93 , 112.

- 53 - GELOTTE (B) , FLODIN (F) et KILLANDER (J).

Fractionation of human plasma proteins by gel filtration and zone electrophoresis or ion exchange chromatography.
Arch. Biochem. Biophys. 1962 , SUPPL. 1, 319-26.

- 54 - GITLIN (D) , KLINENBERG (JR) et HUGUES (WL).

Site of catabolism of serum albumin.
Nature . 1958 , 181 , 1064-65.

- 55 - GLAZER (AN) et WELINER (D).

Adsorption of proteins on Sephadex.
Nature : 1962, 194 , 862-3.

- 56 - GOLDSWORTHY (PD) et VOLWILLER (W).

Comparative metabolic rate of chemically (Iode 131) and biosynthetically (Carbon 14 or S-35)-labelled proteins.
Annals of New-York Acad. Sci. 1957 , 70 , 26-48.

- 57 - GORANSON (ES), MAC CULLOCH (AL) et CINITS (EA).

Effect of whole body irradiation on the alpha globulinic fraction in the mice C₃H.

Radiat. Res. 1960, 12, 560-6

- 58 - GORDON (AH).

The use of the isolated perfused liver to detect alterations to plasma proteins.

Biochem. J. 1957, 66, 255-64.

- 59 - GORDON (AH).

The catabolic rate of albumin doubly labelled with iode 131 and carbon 14 in the isolated perfused rat liver.

Biochem. J. 1962, 82, 531-40.

- 60 - GORDON (AH) et HUMPHREY (JH).

Methods for measuring rates of synthesis of albumin by the isolated perfused rat liver.

Biochem. J. 1960, 75, 240-47.

- 61 - GRABAR (P), HASHKIN (KP) et CCURCON (J).

Changements protéiques dans le sérum des souris soumises à une irradiation létale.

Rev. Franç. Etudes Biol. et Clin. 1963, 8, 565-9.

- 62 - GUIDOTTI (GE), CLERICI (E), SAMBO (G) et BAZZONO (E).

Albumin synthesis in regenerating liver cells.

Experientia 1959, 15, 55-56.

- 63 - HAWKINS (JD).

Possible sites of catabolism of rat serum albumin.

Biochem. J. 1961, 80, 210-14.

- 64 - HOAGLAND (MB), STEPHENSON (ML), SCOTT (JF), HECHT (LI) et ZAMENICK (PC).

A soluble ribonucleic acid intermediate in protein synthesis.

J. Biol. Chem. 1958, 231, 241-57.

- 65 - HOLMES (BE).

Influence of ionizing radiation on metabolism of regenerating rat liver
IN : IONIZING RADIATION AND CELL METABOLISM. A CIBA
FONDATION SYMPOSIUM ; 1956 p. 225-38 . Edit. Wolsten Holme
and Cecilia O' Connor.

66 - HUGUES (WL).

The chemistry of iodination.
Ann. New-York. Acad. Sci. 1957 , 70, 3-18.

67 - HUGUES (WL), et STRAESSLE (R).

Preparation and properties of serum and plasma proteins. XXIV.
Iodination of human serum albumin.
J. Am. Chem. So C. 1950, 72, 452-7

68 - HUMPHREY (JH) et MAC FARLANE (AS).

Rate of elimination of homologous globulins (including antibody) from
the circulation.
Biochem. J. 1954, 57 , 186-191 et 195-203

69 - JACKSON (KL) , RHODES (R) et ENTEMAN (C).

Electrolyte excretion in the rat after severe intestinal damage by X
irradiation. -
Radiat. Res. 1958, 8 , 361-73.

70 - JEFFAY (H) et WINSLER (RJ)

The metabolism of serum proteins.
II.- The effect of dietary protein on the turnover of rat serum protein.
J. Biol. Chem. 1958 , 231, 111 - 116.

71 - JEHOTTE (J).

Etude de l'équilibre azoté du rat soumis à une irradiation létale.
C. R. Soc. Biol. 1954, 148, 941.

72 - JUNGBLUT (PW).

Biosynthèse de la sérum albumine de rat. I : Recherche , isolement
et caractérisation à partir des éléments cellulaires du foie de rat.
Biochem. Zeit. 1963, 337 , 267-84

73 - JUNGBLUT (PW).

Biosynthèse de la sérum albumine . II : Etude de la synthèse et de la
sécrétion de sérum albumine au moyen de foie de rat isolé et perfusé.
Biochem. Zeit. 1963 , 337 , 285-96.

74 - JUNGBLUT (PW)

Biosynthèse de la sérum albumine de rat. III : Mécanisme de formation
des chaînes polypeptidiques.
Biochem. Zeit. 1963, 337 , 297-302

- 75 - JUNCUEIRA (LCU), HIRSH (GC) et ROTHSCCHILD (HA).
Glycine uptake by the proteins of the rat pancreatic juice.
Biochem. J. 1955, 61, 275-78.
- 76 - KALASHNIKOVA (MM).
Régénération réparatrice du foie de rat après irradiation X locale.
Dokl. Akad. Nauk. SSR. 1963, 151 n° I, 213-16.
- 77 - KAYSER (F).
Bull. Soc. Chim. Biol. 1930, 12, 533
- 78 - KEYSER (JW) .
Rapid estimation of albumin and total protein in small amounts of blood serum.
Clin. Chim. Acta 1962, 7, 299-300.
- 79 - KILLANDER (J).
Separation of human and hemoglobin binding plasma protein, ceruleoplasmine and albumin by gel filtration.
Biochim. Biophys. Acta. 1964, 93, 1-14.
- 80 - KIRSCH (JF), SIEKEVITZ (P) et PALADE (GE).
Amino acid incorporation in vitro by ribonucleoprotein particles detached from guinea pig liver microsomes.
J. Biol. Chem. 1960 , 235, 1919-22.
- 81 - KCCH (R) et STAHLER (F).
Studies on biological radiation protection.
Strahlentherapie 1963, 121, 129-40.
- 82 - KOLIMCRGEN (GM) et CSBORNE (JW).
Protein content and composition of rat serum as related to whole and partial body X irradiation.
47 th . annual meeting of the federation of American societies for experimental biology.
Fed. Proc. 1963 , 22, 579.
- 83 - KORNER (A).
Incorporation in vitro of C 14 amino acids into proteins of rat liver microsomal particles.
Biochem. Biophys. Acta. 1959, 35, 554- 5.

- 84 - KORNER (A) et DEBRC (JR).

Solubility of albumin in alcohol after precipitation by trichloroacetic acid : a simplified method for separation of albumin.
Nature . 1956, 178 , 1067.

- 85 - KOSMIDER (S) , PIEKANSKI (B) , PETELENN (T) et WIERNY (L).

Electrophoretic studies of serum proteins in rabbits with post irradiation disease.
Arch. Immun. Therap. Doswiadczalne j. 1960, 8 (4) , 747-57.

- 86 - KOUSIN (AM) et STRAJEVSKAYA (NB).

Dans le livre : les conclusions de la science. Sciences biologiques.
Radio-biologie médicale : Moscou 1957, Tome I , page 50.

- 87 - KREBS (JS) et BAUER (RW).

Modification of BSP metabolism by bile stasis and liver injury.
Am. J. Physiol. 1960 , 198 , 774-78.

- 88 - KRUH (J).

La biosynthèse des protéines.
Rev. Franç. Et. Biol. Clin. 1960, 5 , 82-92 et 296-305.

- 89 - KUVAEVA (EB), GUMILEVSKAYA (NA), CHUMIKINA (LV) et SISAKJAN (NM).

Incorporation d'acides aminés dans les protéines dans un système acellulaire du cocon de Bombyx Mori.
Dokl. Akad. Nauk. SSR. 1966 , 167 n°3 , 695-8.

- 90 - LAMOTTE (M).

Introduction à la biologie quantitative . MASSON Edit. Paris 1948.

- 91 - LEONE (AC) , HARNET (AR) et CRIST (R).

Paper electrophoretic analysis of serum from irradiated Rhesus Monkeys.
Radiat. Res. 1959, 10, 357 - 69.

- 92 - LIPKIN (M) , CUASTLER (H) et MUGGIA (F).

Protein synthesis in the irradiated intestine of the mouse.
Radiat. Res. 1963, 19, 277-85

- 93 - LOONEY (WB), PARDUE (ML) et BANGHART (FW).

Synthesis of ADN as a function of the radiation dose to the liver in partially hepatectomized rats.
Nature 1963, 198, 804-5.

- 94 - LOTFIELD (RB) et HARRIS (A).
Participation of free amino acid in protein synthesis.
J. Biol. Chem. 1956, 219, 151-59.
- 95 - LUKIN (L).
The effects of total body X irradiation on blood volumes in splenectomized dogs.
Radiat. Res. 1957, 7, 150 - 60.
- 96 - LIKIN - L) et GREGERSEN (MI).
Premortal blood volumes in splenectomized dogs after total body X irradiation.
Radiat. Res. 1957, 7, 161-66.
- 97 - LUSBAUGH (CC), SUTTON (J) et RICHMOND (ER).
The question of electrolyte loss in the intestinal death syndrome of radiation damage.
Radiat. Res. 1960, 8, 361-73.
- 98 - MAC FARLANE (AS).
Labelling of plasma proteins with radioactive iodine.
Biochem. J. 1956, 62, 135-43
- 99 - MAC FARLANE (AS).
Use of labelled plasma protein in study of nutritional problems.
Progress in Biophysics . London 1957 ; Pergamon Press.
- 100 - MAC FARLANE (AS).
Absolute measurement of synthesis rates of liver produced plasma proteins.
Biochem. J. 1963, 87, 22 p.
- 101 - MAC FARLANE (AS).
Measurement of synthesis rates of liver produced plasma proteins.
Biochem. J. 1963, 89, 277-90.
- 102 - MAC KEE (RV) et BRIN (M).
Effects of X irradiation on glucogenolysis and gluconeogenesis in rat.
Arch. Biochem. Biophys. 1956, 61, 370-96.

- 103 - MADDEN (RE) et GOULD (RC)

The turn-over rate of fibrinogen in the dog.
J. Biol. Chem. 1952, 196, 641-50.

- 104 - MADIEVSKII (YAM).

Changes in the fractional composition and colloidal resistance of rabbit blood serum proteins in irradiation sickness.
Med. Radiol. 1964, 9 (5) 24-29.

- 105 - MAKHLINA (AM) et ABUSINA (GN).

Electrophoretic investigations of liver proteins of irradiated animals.
Vestnikleningrad Univ. 1961, 16, 89-100.

- 106 - MARBLE (G), FROSSARD (H), BREUIL (L) et ENGLER (R).

Evolution de la glycémie chez le rat après irradiation gamma.
Rapport CEA Fr. 1965 n° 2922, 10 p.

- 107 - MARQUES (P), DOUSTE BLAZY (L) et de MAUREGARD (O).

Les protéines plasmatiques sous cobaltothérapie dans les néoplasmes malins ; étude sur 100 malades.
Bull. Assoc. Franç. Et. Cancer 1961, 48, 421-35

- 108 - MARSH (JB) et DRABKIN (DL).

Metabolic channeling in experimental nephrosis ; III - Influence of adrenalectomy ; Liver hypertrophy.
J. Biol. Chem. 1958, 230, 1063-72.

- 109 - MICHAEL (SE).

The isolation of albumin from blood serum or plasma by means of organic solvents.
Biochem. J. 1962, 82, 212-18.

- 110 - MILLER (LL), BLY (CG), WATSON (ML) et BALE (WF).

The dominant role of the liver in plasma protein synthesis. A direct study of the isolated perfused rat liver with the aid of lysine C 14.
J. Exptl. Med. 1951, 94, 431-53.

- 111 - MCNNET (L) et BIGOT (P).

Techniques de la laboratoire de l'internat en pharmacie de LYON ; 1957.

- 112 - MCYSON (FR) et STEENS-LIEVENS (A).

Acide ribonucleique hépatique et synthèse des protéines sériques.
Biochem. Biophys. Acta. 1956, 21, 500-506.

- 113 - NEUMASTER (K)

Klinisch chemische Untersuchungen zur Beeinflussung der Leber
Funktion Röntgenstrahlen.
Strahlentherapie 1963 , 122, 68-75.

- 114 - PATT (HN), SWIFT (MN), TYREE (EB) et JOHN (ES).

Adrenal response to total body X irradiation.
Am. J. Physiol. 1947 , 150, 480-7.

- 115 - PAULOV (S).

The appearance of new proteins in the serum of irradiated rabbits.
Folia Biologica (Praha) 1962 , 8, 186-88.

- 116 - PELC (SR).

Effect of X rays on the metabolism of cell nuclei of non dividing tissues
Nature 1956 , 178, 359-60.

- 117 - PENN (NW).

The requirements for serum albumin metabolism in subcellular fraction
of liver and brain .
Biochem. Biophys. Acta. 1960; 37, 55.

- 118 - PENN (NW).

Metabolism of the protein molecule in a rat liver mitochondrial
fraction.
Biochem. Biophys. Acta. 1961 , 53, (3) , 490-94.

- 119 - PENN (NW) , MANDELES (S) , et ANKER (HS).

On the kinetics of turnover of serum albumin.
Biochem. Biophys. Acta. 1957, 26, 349-60.

- 120 - PERLMANN (P) , HULTIN (T) , D'AMELIO (V) et MORGAN (WS).

Distribution and metabolism of protein antigens in rat liver.
exp. Cell. Res. 1959 , suppl. 7, 279.

- 121 - PETERS (Th. Jr.).

A serum albumin precursor in cytoplasmic particles.
J. Biol. Chem. 1957, 229, 659-77.

- 122 - PETERS (Th. Hr .).
Cytoplasmic particles and serum albumin synthesis.
J. Histochem. Cytochem. 1959, 7, 224-34.
- 123 - PETERS (Th. Jr .).
The biosynthesis of serum albumin . I The properties of rat serum albumin and its occurrence in liver cell fractions.
J. Biol. Chem. 1962, 237, 1181-1185.
- 124 - PETERS (T), LOGAN (AC) et SANFORD (CA).
Terminal amino acid residues of chicken, duck and turkey serum albumins.
Biochem. Biophys. Acta. 1958, 30, 88-92.
- 125 - PHA (RS) et HANNINEN (N).
Effect of gamma-radiation on plasma protein.
Teknillisen Kam. Aikakausle. 1960, 17, 763-70.
- 126 - REEVE (EB), PEARSON (JR) et MARTZ (DC).
Plasma protein synthesis in the liver ; Method for measurement of albumin formation invivo.
Science 1963 , 139 , 914-16.
- 127 - REITMAN (S) et FRANKEL (S).
A colorimetric method for the determination of SGOT and SGPT.
J. Clin. Pathol 1957, 28, 56.
- 128 - RENZI (R) et WULTIN (T).
Preparation and amino acid incorporating ability of ribonucleoprotein particles from different tissues of the rat.
Exp. Cell. Res. 1960, 19, 253.
- 129 - RICHMOND (JE), CRD (MG) et STOCKEN (LA).
The effect of X irradiation in vivo on protein and nucleoprotein metabolism in the rat.
Biochem. J. 1957, 66, 123-27.
- 130 - RINALDI (R), LLORY (J) et SUSCILLON (S).
Rapport CEA n° 2.132 , 1962, CEN GRENOBLE.
- 131 - ROBERTS (S) et KELLEY (MB).
Metabolism of plasma proteins in vitro.
J. Biol. Chem. 1956, 222, 555-64.

- 132 - RODIONOV (VM).

Mécanismes de l'action des radiations.

Messenger (Vestnik) de l'académie des sciences de l'URSS 1962, 17, 48-58.

- 133 - ROSEN (D)

Intermolecular and intramolecular reactions of human serum albumin after X irradiation in aqueous solutions.

Biochem. J. 1959, 72, 597-602.

- 134 - ROTHCHILD (MA), SCHREIBER (SS), CRATZ (M) et MAC GEE (HL).

The effect of adrenocortical hormones on albumin metabolism studied with I 131.

J. Clin. Invest. 1958, 37, 1229-35.

- 135 - RUTMAN (J), RUTMAN (RJ) et TARVER (H).

Studies of protein synthesis in vitro : V . The effect of diet and fasting on the incorporation of methionine labelled with 35 S into liver protein.

Biol. Chem. 1955, 212, 95-103.

- 136 - SAN PIETRO (A) et RITTENBERG (D).

A study of the rate of protein synthesis in human. II - Measurement of the metabolic pool and the rate of protein synthesis.

J. Biol. Chem. 1953, 201, 457 - 73.

- 137 - SARGENT (JR) et CAMBELL (PN).

Sequential synthesis of serum albumin by the microsome fraction from rat liver.

Biol. J. 1963, 89, n° 1 , 16 P.

- 138 - SASSEN (A), KENNES (F) et MAISIN (JR).

Etudes des modifications proteiques du sérum de rat après une irradiation totale.

C. R. Soc. Biol. Fr. 1963, 157 n°5 , 1112-16.

- 139 - SCHNEIDER (WC) et HOGEBOOM (GH).

Intracellular distribution of enzymes.

J. Biol. Chem. 1950, 183, 123(28).

- 140 - SCHATZ (R) et DAMESHK (W).

Drug induced immunological tolerance.

Nature, 1959, 163, 1682-83.

- 141 - SHABER (CS) et MILLER (LL).
Studies on fibrinogen turnover before and after whole body X irradiation in the rat.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 1963, 113, 246-50.
- 142 - SHIBATA (Y).
Influence of X irradiation upon serum ptoteins.
Nippon Igaku Hoshasen Gakkaï Zasshi 1960, 19, 2517.
- 143 - SLAVNOV (NV).
Content of blood albumin fractions and antitoxic function state of the liver of rabbits during repeated X irradiation with different doses.
Vrachebnoe Delo 1961, 8, 26-30.
- 144 - SLAVNOV (NM).
Content of blood protein fractions and the state of the liver antitoxic function in animals repeatedly irradiated by different X ray doses.
Radiobiologiya 1962, 2, 461-67.
- 145 - SMITH (WG) et WILLIAMS (AW).
Irradiation nephritis.
Lancet 1955, I, 175-77
- 146 - SOLAZEMNIYETSE (CD).
The influence of ionizing radiation on the flood proteins of rat.
Bio. Sci. 1963, 145, 61-71.
- 147 - SOLOMON (G) et TARVER (H).
The effect of diet on the rat of loss of labelled amino acids from tissue proteins.
J. Biol. Chem. 1952 , 195, 447-52.
- 148 - SPARCHEZ (TB), CHECRCHIESCO, MERCURIEV (EL) et VASILESCO.
Contribution à l'étude du métabolisme protéinique au cours de l'hépatite chronique à l'aide de la sérum albumine marquée à l'iode 131.
Rev. Intern. Hepatol. 1963, 13, 15-21.
- 149 - STEPHEN (JML) et WATERLOW (JC).
Use of carbon 14 labeled arginine to measure the catabolic rate of serum and liver proteins and the extent of amino acid recycling.
Nature 1966, 211, 978-80.

- 150 - STERLIN (CS) et SHIFFER (IV).
Effet des radiations ionisantes sur la régénération du foie des souris blanches lors d'une irradiation de courte durée et chronique des animaux.
Bull. Eksper. Biol. Med. SSSR 1963, 6 n° 7, 87-91.
- 151 - STERLING (K).
The turnover rate of serum albumin in man as measured by iodine ¹³¹-tagged albumin.
J. Clin. Invest. 1951, 30, 1228-37.
- 152 - SUKHOMLIKOV (BF), EDKINA (VD) et YAKORENKO (AN).
Electrophoretic characteristics of blood serum and liver proteins subjected to ionizing radiation.
Biol. Destvie Radiat. L'Vook Gos Univ 1962, 1, 8.
d'après CA 1963, 59, 782 a.
- 153 - SUROVIKINA (MS).
Rate of plasma protein fractions removal from blood stream, life span of blood proteins.
Akad. Nauk. Uz. SSR 1958, 36, 974.
- 154 - SWICK (RW).
Measurement of protein turnover in rat liver.
J. Biol. Chem. 1958, 231, 751-64.
- 155 - TAKAMANI (M).
A stable ribonucleoprotein for incorporation of amino acids.
Biochem. Biophys. Acta. 1960, 39, 318-26.
- 156 - TRIGGIANI (G) et RAVA (G).
Modificazioni protidemiche nella esposizione cronica ai raggi X.
Rass. Med. Industri. 1961, 30, 76-88.
- 157 - UDENFRIED (S) et VELICK (SF).
The isotope derivative method of protein amino end-group analysis.
J. Biol. Chem. 1951, 190, 733-40.
- 158 - VEALL (M) et VETTER (R).
Radioisotopes techniques in clinical research and diagnosis.
Livre. Butterworths Edit. London 1958.

- 159 - VCLEK (V) et DIENSTBIER (L).

Der Einfluß kombinierte Strahlung auf die Aktivität der Milchäuredehydrogenase und das Blutbild.
Strahlentherapie 1964, 123, 125-31.

- 160 - VOLWILLER (W), GOLDWORTHY (PD), MAC MARTIN (MP),
WOOD (PA), MAC KAY (IR), et FREMONT-SMITH (K).

Biosynthetic determination with radioactive sulfur of turnover rates of various plasma proteins in normal and cirrhotic man.
J. Clin. Invest. 1955, 34, 1126-46.

- 161 - WALDSCHMIDT (L) et KELLER (L).

Changes in serum proteins of goats after X irradiation.
Strahlentherapie 1961, 116, 610-614.

- 162 - WALTER (H), HAUROWITZ (F), FLEISHER (S), CHENG (HF),
LIETZE (A), TURNER (JE) et FRIEDBERG (W).

The metabolic fate of injected homologous serum proteins in rabbits.
J. Biol. Chem. 1957, 224, 107-119.

- 163 - WETTERFORS (J), LILJEDAHL (SO), PLANTIN (LO) et BIRKE (G).

The acute radiation syndrome : the importance of the gastrointestinal injury in catabolism and distribution of serum albumin.
Acta. Med. Scand. 1965, 177, 227-42.

- 164 - WHIPPLE (CH)

The dynamic equilibrium of body proteins.
Amer. J. Med. Sci. 1938, 196, 609.

- 165 - WUHRMANN (F) et WUNDERLY (Ch).

Les protéines du sang humain. Collection de l'institut Pasteur.
Editions médicales Flammarion Paris 1961.

- 166 - ZAMENICK (PC) et KELLER (EB).

Relation between phosphate energy donors and incorporation of labelled amino acid into proteins.
J. Biol. Chem. 1954, 209, 337-54.

- 167 - ZAMY ATKINA (OG).

Causes of impairment in synthesis of serum albumin in rat liver in acute radiation sickness.
Vopr. Med. Khim. 1964, 10, (4), 362-7.

168 - ZAMY ATKINA (OG).

Peculiarities of serum albumin synthesis in chicken tissues during acute radiation syndrome.

Radiobiologiya. 1963, 3, 508-13.

169 - ZAMY ATKINA (OG).

Biosynthesis of serum albumin in rats during radiation sickness.

Radiobiologiya. 1962, 2, 685-9.

170 - ZARUBA et KAREL.

Renal function in acute radiation sickness.

Radiat. Res. 1965, 25, 1-8.

